Untersuchungen zur Frage der Erholungsfähigkeit und der altersabhängigen Strahlenempfindlichkeit jugendlicher Mäuse nach kurzzeitiger Ganzkörperbestrahlung mit Röntgenstrahlen

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Klaus-Dieter Hellwege

Saarbrücken

1971

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus dem Institut für Biophysik der Universität des Saarlandes

- Boris Rajewsky-Institut -

Direktor: Prof. Dr. rer. nat. H. Muth

Untersuchungen zur Frage der Erholungsfähigkeit und der altersabhängigen Strahlenempfindlichkeit jugendlicher Mäuse nach kurzzeitiger Ganzkörperbestrahlung mit Röntgenstrahlen

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1971

vorgelegt von

Klaus-Dieter Hellwege

geb. am 17.1.1943 in Hamburg

Dekan: Prof. Dr. med. H. Kulenkampff

Referent: Prof. Dr. rer. nat. H. Muth

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Prüfung abgelegt am: 10.11.1971

Meiner

Frau Gudrun

gewidmet

4.0. Diskussion 44

4.1. Faktoren, die die Strahlenempfindlichkeit beeinflussen, und ihre möglichen Auswirkungen auf die Versuchsergebnisse 44

4.1.1. Physikalische Faktoren 44

4.1.2. Tiereigene Faktoren 46

4.1.2.1. Tieralter 46

4.1.2.2. Geschlecht 49

4.1.2.3. Gewicht 51

4.1.2.4. Hämatopoetisches System 52

4.1.2.5. Gastrointestinaltrakt 55

4.1.2.6. Tageszeit 56

4.2. Die Erholungsvorgänge 57

4.2.1. Erläuterung des Begriffes Erholung 57

4.2.2. Modelle zur Erklärung der Erholungsvorgänge 60

4.2.2.1. Exponentialmodell 60

4.2.2.2. Zellkinetisches Modell 62

4.2.3. Vergleich mit eigenen Versuchsergebnissen 72

5.0. Zusammenfassung 75

6.0. Anhang 77

7.0. Schrifttum 86

1.0. Einleitung

Werden lebende Organismen der Einwirkung ionisierender Strahlen ausgesetzt, so können in Abhängigkeit von der applizierten Strahlendosis Strahlenschäden auftreten. Diese lassen sich formal als reversible oder irreversible Zellschädigungen beschreiben. Während irreversible Strahlenschäden zu bleibenden Veränderungen in der Zelle führen, können die reversiblen Schäden durch die Zelle kompensiert werden. Das Ausmaß der Strahlenschädigung wird wesentlich durch die Phasen des Zellzyklus variiert. Diesen Zusammenhang erkannten bereits 1906 BERGONIE und TRIBONDEAU. Sie stellten die strahlenbiologische Grundregel auf, daß die Strahlensensibilität von Zellen proportional zu ihrem Zellteilungsrhythmus und umgekehrt proportional zum Grad ihrer Differenzierung ist. Eine Vielzahl morphologischer Daten bestätigte in der Folge diese Aussage. So manifestierten sich nach einmaligen, kurzzeitigen Ganzkörperbestrahlungen von einigen 100 R die Strahlenschäden am auffälligsten in den proliferierenden Geweben. Die klassischen Untersuchungen von RAJEWSKY und Mitarbeitern (1956) über die Zusammenhänge zwischen Strahlendosis und Strahlenwirkung in einem weiten Dosisbereich bei einmaliger, kurzzeitiger Ganzkörperbestrahlung von Säugetieren führten zur Aufstellung allgemeiner Schädigungskurven. Ihrem S-förmigen Verlauf konnten drei verschiedene Schädigungsmechanismen zugeordnet werden. Im Bereich bis zu 1 000 R führten Störungen der blutbildenden Systeme zum Tod der Versuchstiere, zwischen 1 200 R und 10 000 R waren es im wesentlichen Epithelschäden des Magen - Darmtraktes, die den Tod verursachten, und bei noch höheren Strahlendosen kam es zum zentralnervösen Tod des Tieres. - Das Ausmaß des

Strahlenschadens wird außer vom Zellteilungsrhythmus von einer Reihe tiereigener Faktoren modifiziert. So wurde in der Literatur auf die Abhängigkeit der Strahlensensibilität vom Geschlecht der Versuchstiere, ihrem Gewicht, ihrer tages- und jahreszeitlichen Rhythmik und ihrem Alter hingewiesen.

In den vorliegenden Untersuchungen wird zunächst die Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit von tiereigenen Faktoren, insbesondere vom Alter der Versuchstiere (Mäuse) während der Säuglingsperiode, ermittelt. Diese Ergebnisse dienen dann als Bezugswerte zur Interpretation der Erholungsvorgänge, mit denen sich der zweite Teil der Untersuchungen beschäftigt. Als Maß für die Strahlenempfindlichkeit dient diejenige letale Dosis, bei der nach einer Ganzkörperbestrahlung die Hälfte der Versuchstiere innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von 30 Tagen stirbt, abgekürzt die LD 50/30 d.

Die Kinetik der Erholungsvorgänge nach einer Strahlenexposition ist bis heute noch nicht eindeutig und umfassend geklärt. Von den ersten Untersuchern (HAGEN, SIMMONS 1947, PATERSON 1952, BLAIR 1952, 1964) wurde angenommen, daß sich die Erholung exponentiell als Funktion der Zeit nach der Bestrahlung verringert. Nachfolgende Experimente ließen jedoch Zweifel an der Richtigkeit dieser Hypothese aufkommen. Insbesondere MOLE (1966) entwickelte, abweichend von der exponentiellen Deutung der Erholungsvorgänge, ein Modell, das die tierexperimentellen Befunde mit zellkinetischen Vorgängen zu korrelieren versuchte. Er beschreibt drei Phasen der Erholung: Die erste Phase ist begleitet von einem steilen Anstieg der Erholungs-

vorgänge während der ersten Stunden nach der Strahlenexposition. In der zweiten Phase schreitet die Erholung mit einer Erholungsrate von rund 50 rad pro Tag voran und dauert etwa bis zum 10. Tag. Die dritte Phase schließlich ist bis zu 7 Wochen nach der Strahleneinwirkung durch phasische Schwankungen der Erholungsvorgänge um einen Mittelwert charakterisiert.

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Untersuchungen haben zum Ziel, das Ausmaß der Erholungsfähigkeit im Bereich der ersten, schnellen Phase der Erholung zu untersuchen, und zu prüfen, ob sich der von MOLE (1966) angenommene steile Anstieg in diesem Zeitraum bestätigen läßt. Da frühe Erholungsverläufe bisher ausschließlich an erwachsenen Tieren untersucht wurden, (MOLE 1956, 1962, STORER 1964, KALLMAN und SILINI 1964, 1966), interessierte vor allem die Frage, ob sich in der ersten Phase der Erholung jugendlicher Mäuse ein ähnlicher Verlauf beobachten läßt, wie er bei erwachsenen Tieren beschrieben wurde. Diese Frage ist deshalb bedeutungsvoll, weil angenommen wird, daß gerade jugendliche Altersgruppen durch ihre im Vergleich zu ausgereiften Tieren höhere Strahlenempfindlichkeit eine kritische Teilpopulation darstellen.

2.0. Material und Methodik der Versuchsdurchführung

2.1. Tiermaterial und Tierhaltung

Für die Versuche wurden in der Zeit von Januar 1969 bis zum Dezember 1970 rund 6 000 männliche und weibliche Mäuse eines institutseigenen Albinostammes benötigt. Die Tiere lebten in

vollklimatisierten Tierställen. Die Raumtemperatur betrug 23° C bis 26° C, im Mittel 25° C. Die relative Luftfeuchtigkeit schwankte zwischen 45 % und 65 %. Sie war witterungsabhängigen Veränderungen unterworfen und betrug durchschnittlich 53 %. Die Versuchstiere wurden in Makrolonkäfigen (Altromin, Typ 2) gehalten. Der Einstreu der Käfige bestand aus Hobelspänen. Die Hobelspäne wurden wöchentlich frisch eingefüllt und die Käfige anschließend autoklaviert. Die durchsichtigen Käfige waren mit Gitterdeckeln, in denen Futterraufen eingearbeitet sind, abgedeckt. Trinkwasser und ein Standardfutter (Altromin Mischfutter R 10) stand den Tieren unbeschränkt zur Verfügung. Das Trinkwasser wurde zweimal wöchentlich gewechselt und die Trinkflaschen aus Kunststoff autoklaviert. Um jahreszeitlich bedingte Einflüsse auf die Strahlenempfindlichkeit der Tiere und auf ihre Fertilität zu minimieren, lebten die Mäuse in einem künstlichen Sommertagesrhythmus von 16 zu 8 Stunden.

2.2. Aufzucht der Versuchstiere

Die Muttertiere lebten zu fünft, die Männchen zu dritt oder zu zweit in ihren Käfigen. Sollten die Weibchen kopuliert werden, wurde ihnen für zweimal 3 Tage je ein Männchen in den Käfig gesetzt. Nach der Paarung kam jedes Muttertier für den Zeitraum der Trächtigkeit in einen Einzelkäfig. Die Trächtigkeitsperiode dauert bei Mäusen 20 bis 21 Tage. Durch tägliche Kontrollen während der Wurfzeit wurde das genaue Geburtsdatum der Jungtiere auf Stallkarten dokumentiert. In die Versuche wurden ausschließlich Jungtiere von erst- oder zweitgebärenden Weibchen aufgenommen. Den Müttern wurden nach jedem

Wurf 8 Jungtiere belassen. Diese Zahl schien gerechtfertift, da damit für 8 Jungtiere weitgehend gleiche Ernährungsbedingungen während der Säuglingsperiode gewährleistet waren. Zählte ein Wurf mehr als 8 Jungtiere, wurden im Sinne einer positiven Auslese nur die Tiere der Mutter belassen, die bereits gesäugt hatten. In der Regel schieden Würfe mit weniger als 8 Jungtieren für die Versuche aus.

Die standardisierten Aufzuchtbedingungen gewährleisteten, daß die Gewichte der Tiere während der gesamten Versuchsdauer nur eine geringe Streuung aufwiesen. Im Alter von 1 Tag wogen die Mäuse 1,5 $\pm$ 0,2 g, im Alter von 6 Tagen 4,0 $\pm$ 0,4 g, im Alter von 12 Tagen 6,1 $\pm$ 0,5 g und im Alter von 16 Tagen 7,8 $\pm$ 0,5 g. Nach der Geburt blieben die Tiere bis zu ihrer Entwöhnung nach rund 25 Tagen bei der Mutter.

2.3. Bestrahlungsanlage, Dosimetrie und Dosisverteilung im Bestrahlungsfeld

Zur Bestrahlung diente das Siemens Therapiegerät "Stabilipan". Bei den gewählten Bestrahlungsbedingungen (Spannung: 200 kV, Strom: 15 mA, Filterung: 1 mm Cu) betrug die Dosisleistung in 50 cm Fokus-Oberflächenabstand (FOA) 44 R/min.

Ein 40 cm Tubus leuchtete im Abstand von 50 cm ein Bestrahlungsfeld von 16 x 10,5 cm aus. In ihm wurde im Zentrum eines Phantoms aus Plexiglas, dessen Abmessungen dem späteren Bestrahlungsbehälter entsprachen, an 9 Punkten die Dosisverteilung mit Hilfe einer Duplex Mikrokammer gemessen. (Abb. 1). Die Duplex Mikrokammer selbst wurde vor und nach der Messung

im Phantom mit einem Strontium-Standard-Präparat kalibriert. Um die Rückstreuung möglichst gering zu halten, stand der Bestrahlungsbehälter auf einer hölzernen Unterlage.

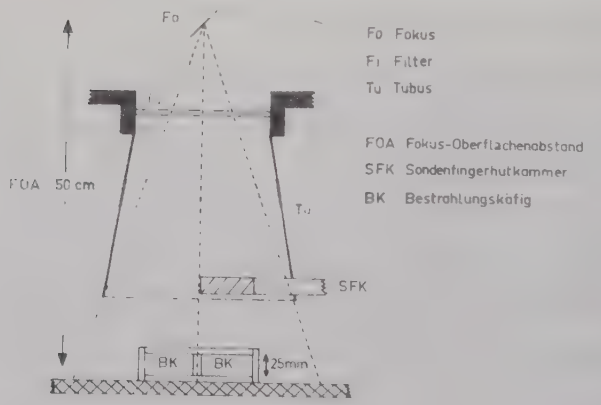

Abbildung 1: Die zur Durchführung der Versuche verwendete Bestrahlungsanordnung.

Während der Kalibrierung wurde mittels einer Siemens-Sondenfingerhutkammer und eines Universaldosimeters eine Vergleichsdosis (Monitordosis) im Tubus mitgemessen. Bei den späteren Versuchen diente die Monitordosis zur Kontrolle der Reproduzierbarkeit der Bestrahlungsbedingungen.

2.4. Bestrahlungstechnik

Zu den Bestrahlungszeiten mußten die Versuchstiere aus den Tierställen in einen teilklimatisierten Bestrahlungsraum gebracht werden. Um die Veränderungen der Umweltsbedingungen gering zu halten, entsprach in diesem Raum die Durchschnittstemperatur während der Bestrahlungszeiten der Temperatur in den Tierställen. Die Tiere wurden in ihren abgedeckten Käfigen transportiert. Zur Bestrahlung mußten die Mäuse in einen Plexiglaskäfig mit 9 getrennten Kammern umgesetzt werden, der so dimensioniert war, daß ein Wurf von 8 Tieren zur gleichen Zeit dorsoventral bestrahlt werden konnte. Eine Kammer blieb frei, da sie im Schatten der im Tubus mitmessenden Sondenfingerhutkammer lag. Die Bestrahlungen dauerten einschließlich der notwendigen manuellen Manipulationen zwischen 8 und 20 Minuten. Im Anschluß an die Strahlenexposition wurden die Tiere sofort der Mutter zurückgegeben.

Die Bestimmung der LD 50/30d jugendlicher Mäuse in Abhängigkeit vom Alter erfolgte nach einmaligen, kurzzeitigen, dorsoventralen Ganzkörperbestrahlungen. Die einzelnen Dosen waren so gewählt, daß eine symmetrische Verteilung der Absterbewahrscheinlichkeit um die LD 50/30d erwartet werden konnte. Die Zahl der verabfolgten Einzeldosen war bei den Versuchsgruppen unterschiedlich. Sie betrugen mindestens drei und maximal sechs. So wurden in den ersten Versuchen die Tiergruppen in Schritten von 100 R mit Dosen zwischen 600 R und 800 R bestrahlt. Spätere Wiederholungen orientierten sich an den Ergebnissen der ersten Versuche. Diese Bestrahlungen

konnten daher mit geringeren Dosisdifferenzen durchgeführt werden. Nach der Strahlenexposition wurden durch tägliche Kontrollen die innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 30 Tagen auftretenden Todesfälle in Strichlisten protokolliert.

Die Erholungsfähigkeit des Organismus nach einer Strahlenexposition läßt sich mit Hilfe von "split dose" Experimenten bestimmen. HAGEN und SIMMONS (1947) führten die "split dose" Technik zur Untersuchung von Erholungsprozessen nach subletalen Ganzkörperbestrahlungen in die Strahlenbiologie ein. Diese Methode, die heute bereits als klassisch bezeichnet wird, beruht darauf, daß die Versuchstiere zunächst mit einer subletalen Vorbestrahlungsdosis der sogenannten "conditioning dose" (D_c) bestrahlt werden. In bestimmten Zeitintervallen nach der ersten Bestrahlung setzt man die Tiere einer zweiten Bestrahlung mit verschiedenen Testdosen ("testdose") aus, deren Höhe so gewählt ist, daß ein in den Experimenten vergleichbarer Effekt eintritt. Bei den vorliegenden Experimenten wurde aus diesem Grunde die LD 50/30d benutzt. Die Differenz zwischen den Werten der LD 50/30d nach einzeitigen und fraktionierten Bestrahlungen erlaubt dann eine Aussage über die Höhe des von der Vorbestrahlung herrührenden, strahlungsbedingten Restschadens. Aus der Höhe des Restschadens läßt sich das Ausmaß und der zeitliche Verlauf der Erholungsvorgänge beurteilen. Da der Restschaden auf die Conditioning Dose bezogen wird, erhält man für die Interpretation der Erholung eine dimensionslose Zahl (siehe Absatz 2.7. Auswertung der Versuche).

2.5. Fehlerabschätzung

Als Fehlerquellen kamen Ungenauigkeiten der Dosismessgeräte und Inhomogenitäten der Strahlung im Bestrahlungsfeld in Betracht. Änderungen der Dosisleistung, die durch Netzschwankungen während der Bestrahlung verursacht wurden, beeinflußten die Höhe der applizierten Dosis nicht, da sich die Schwankungen über die Bestrahlungszeit zu Null integrierten. Die Inhomogenität der Strahlung lag bei allen Messpunkten im Bestrahlungsbehälter unter 2 %. Die Genauigkeit der Dosisbestimmung wurde auf 1 % geschätzt. Damit betrug der Maximalfehler $\pm$ 3 %. Der Fehler bei der Reproduzierbarkeit der Messungen wurde unter Berücksichtigung der Ungenauigkeiten der Siemens-Sondenfingerhutkammer und des Dosimeters mit $\pm$ 6 % angenommen.

Auf die Konstruktion eines Ausgleichsfilters konnte wegen der homogenen Dosisverteilung im Bestrahlungsfeld verzichtet werden. Infolge der geringen Gewichtsunterschiede und des kleinen Körpervolumens jugendlicher Mäuse durfte eine weitgehend homogene Strahlenbelastung des Organismus angenommen werden. Aus den Kurven und Tabellen für die Strahlentherapie von WACHSMANN und DIMOTSIS (1957) läßt sich entnehmen, daß in gewebeäquivalenten Phantomen bei einer Phantomtiefe von 2,5 cm, die den Bestrahlungsverhältnissen bei der ältesten Tiergruppe entspricht, die relative Tiefendosis 89 % beträgt. Die Wirkungen der Ganzkörperbestrahlung ließen sich daher in den einzelnen Altersgruppen unmittelbar miteinander vergleichen.

2.6. Planung der Versuche

Die Experimente sollten den kritischen Zeitraum der Säuglingsperiode erfassen. Mäuse säugen von der Geburt bis ungefähr zum 16. Lebenstag. Die Bestrahlungsversuche wurden daher auf vier ausgewählte Altersgruppen, die 1, 6, 12 und 16 Tage nach der Geburt bestrahlt wurden, begrenzt. Die Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit vom Tieralter mußte, um die Erholungsvorgänge bei den späteren Versuchen signifikant beurteilen zu können, in wiederholten Vorversuchen ermittelt werden. Die Wiederholungen zeigten eine befriedigende Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Eine Schwierigkeit entstand durch die Tatsache, daß eine zufällige Verteilung der Jungtiere auf verschiedene Versuchsgruppen nicht möglich war. Randomisiert man Mäuse im Säuglingsalter, nehmen die Mütter zwar Jungtiere anderer Würfe an, diese gehen aber nach kurzer Zeit ein. Da durch die genetische Ähnlichkeit der Geschwister eines Wurfes abhängige Strahlenreaktionen erwartet werden mußten, war die Verwendung ausreichend hoher Tierzahlen notwendig, um statistisch gesicherte Ergebnisse zu erhalten. So wurden pro ausgewählter Dosis 40 bis 56 Tiere bestrahlt. Jede LD 50/30d Bestimmung erfolgte mit über 200 Tieren. Der Einfluß des Behandlungstraumas in den untersuchten Altersgruppen wurde durch Scheinbestrahlungen von Kontrollkollektiven geprüft.

Die erste Phase der Erholung soll nach MOLE (1966) den Zeitraum bis zu 24 Stunden nach der Conditioning Dose umfassen. Die Vorbestrahlungsdosis wurde in Übereinstimmung mit anderen

Autoren (KALLMAN 1963, 1964, MOLE 1966) auf 300 R festgelegt. Sie entspricht damit angenähert der Hälfte der LD 50/30d für Mäuse.

Für die Fraktionierungsintervalle zwischen der Conditioning Dose und der Testdosis wurden folgende Zeiten festgelegt: 30, 60, 120, 240 Minuten sowie 12 und 24 Stunden. Die frühen und häufigen Fraktionierungsintervalle innerhalb der ersten 4 Stunden sollten einen Hinweis auf mögliche Schwankungen der Erholungsvorgänge während dieses Zeitraumes geben und durch die länger dauernden Pausen der von MOLE angenommene exponentielle Verlauf der Erholung mit der Zeit geprüft werden. Die Testdosen zum Zeitpunkt der Zweitbestrahlung variierten zwischen 250 R und 550 R. Sie wurden in Schritten von je 50 R appliziert.

2.7. Auswertung der Versuche

Für die Auswertung der Versuche wurden die folgenden Daten dokumentiert:

1. Alter und Wurfzahl der Mutter,
2. Geburtstag des Wurfes,
3. Alter, Anzahl und Gewicht der Tiere am Bestrahlungstag,
4. die applizierte Dosis,
5. die Abnahme der Tierzahl im Verlauf der 30-tägigen Beobachtungsperiode,
6. die Zahl der Überlebenden.

Die Zusammenstellung dieser Daten bildete die Grundlage der Versuchsauswertung. Zusätzlich wurden typische Veränderungen der Tiere, die im Zusammenhang mit dem Strahlensyndrom standen, notiert. Auf eine geschlechtsspezifische Auswertung der Versuche wurde aus später näher ausgeführten Gründen verzichtet. - Die Scheinbestrahlungen ergaben, daß eine Korrektur der beobachteten Letalität hinsichtlich der Säuglingssterblichkeit, die durch das Behandlungstrauma verursacht wurde, nicht erforderlich war. Während des 30-tägigen Beobachtungszeitraumes starb keines der scheinbestrahlten Kontrolltiere. In späteren Versuchen wurde daher auf Scheinbestrahlungen verzichtet. Die spontane Säuglingssterblichkeit, die die Auswertung hätte beeinflussen können, brauchte durch die Reduzierung der Würfe auf 8 gesunde, säugende Jungtiere ebenfalls nicht berücksichtigt zu werden. Die Interpretation der Dosis-Wirkungskurven erfolgte mit Hilfe der Probitanalyse (FINNEY 1952).

In einer Gruppe von Säugetieren reagieren nicht alle Individuen gleich empfindlich auf die Einwirkung ionisierender Strahlen. Die Probitanalyse beruht auf der Annahme, daß die Abweichungen der Strahlensensibilität von einer mittleren Empfindlichkeit in den Versuchsgruppen normal verteilt ist. Unter dieser Voraussetzung nehmen die summierten sigmoiden Dosis-Wirkungskurven die Form einer Gauss'schen Glockenkurve an. Durch Transformation mit Hilfe des Gauss'schen Integrals gelingt es, die Dosis-Wirkungskurven als Regressionsgeraden im Wahrscheinlichkeitsnetz darzustellen. In diesem Koordina-

tensystem ist die Abszisse linear geteilt und der Ordinatenmaßstab durch das Gauss'sche Integral verzerrt. Für die Auswertung der Versuche stand ein Programm zur maschinellen Berechnung der Probitanalysen zur Verfügung (H.J. JESDINSKY, Institut für medizinische Statistik und Dokumentation, Universität Freiburg i.Br.)

Das Programm erlaubte bis zu 20 Iterationszyklen, um die Regressionsgerade am besten den Messpunkten anzunähern. Zusätzlich wurden die 95%igen Vertrauensgrenzen der Regressionsgeraden berechnet. Sie umschließen den Bereich, innerhalb dessen die LD 50/30d mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % liegt. Mit Hilfe des Rechenprogrammes wurden die Regressionsgeraden sowohl für die Experimente nach einzeitiger wie auch für die Versuche nach fraktionierten Bestrahlungen berechnet. Die Schnittpunkte der Regressionsgeraden und Vertrauensbereiche mit der 50 % Linie der Ordinate geben die LD 50/30d Werte mit ihren dazugehörigen 95%igen Vertrauensgrenzen an. Signifikante Unterschiede der Ergebnisse konnten immer dann angenommen werden, wenn sich die Vertrauensbereiche nicht überlappten.

Nicht bei allen Versuchen entsprach die Dosis-Wirkungsbeziehung dem Modell einer Normalverteilung. In diesen Fällen unterblieb eine maschinelle Auswertung wegen der "Heterogenität" der beobachteten Messdaten. Nach FINNEY tritt Heterogenität immer dann auf, wenn die Versuchstiere in einer gemeinsamen Abhängigkeit zueinander stehen, wie es zum Beispiel durch die genetische Abhängigkeit unter Wurfgeschwistern der Fall sein

kann. Bei den wenigen Versuchen, deren Auswertung wegen Heterogenität unterblieb, ließen sich dennoch die LD 50/30d Werte hinreichend genau aus der graphischen Darstellung der Messpunkte im Wahrscheinlichkeitsnetz abschätzen.

Wie bereits im Kap tel 2.4. über die Bestrahlungstechnik erläutert, wurden die Erholungsvorgänge mit Hilfe der "split dose" Methode bestimmt. Bei diesem Verfahren wird der nach einer Vorbestrahlung (Conditioning Dose, D_c) verbleibende, prozentuale Restschaden durch die Belastbarkeit des Organismus nach einer zweiten Strahlenexposition in verschiedenen Zeitabständen zur Vorbestrahlung festgestellt. Der von der Conditioning Dose D_c herrührende Restschaden I läßt sich durch die Differenz der LD 50/30d Werte von vorbestrahlten und nicht vorbestrahlten Tieren berechnen.

$$I = LD\ 50/30d - LD\ 50/30d_t$$

Die LD 50/30d entspricht dem Wert einmal bestrahlter Tiere und die LD 50/30 d_t dem Wert zum Zeitpunkt der Zweitbestrahlung. Drückt man den verbliebenen Restschaden in Prozent der Vorbestrahlungsdosis, D_c, aus, gilt:

$$I\ \% = 100 \times \frac{LD\ 50/30d - LD\ 50/30d_t}{D_c},$$

$$I\ \% = 100\ \frac{I}{D_c}.$$

Daraus ergibt sich für Erholungsraten (E %):

$$E\ \% = 100 - I\ \%$$

Zum besseren Verständnis sind nachfolgend die benutzten Abkürzungen noch einmal zusammengestellt:

D_c = Vorbestrahlungsdosis, "Conditioning dose", Erstbestrahlung

D_t = Testdosis, "testdose", Zweitbestrahlung

I = Restschaden, "injury"

I % = Restschaden in Prozent der Vorbestrahlungsdosis

E % = Erholungsrate

LD 50/30d = Mittlere letale Dosis nach einzeitigen Ganzkörperbestrahlungen innerhalb von 30 Tagen

LD $50/30d_t$ = Mittlere letale Dosis zum Zeitpunkt der Zweitbestrahlung D_t

3.0. Ergebnisse

3.1. Abhängigkeit der letalen Wirkung einer einzeitigen Ganzkörperbestrahlung vom Tieralter

3.1.1. Dosiswirkungskurven

Die Bestimmung der 50%igen Letalität innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 30 Tagen wurde in Abhängigkeit vom Alter an rund 1 600 Tieren in 24 Einzelversuchen durchgeführt. Die Experimente erfaßten jugendliche Mäuse im Alter von 1, 6, 12 und 16 Tagen. Die Ergebnisse der Bestrahlungsversuche sind in Tabelle 1 im Anhang der Arbeit zusammengestellt.

Typische Beispiele für die Mortalitätsverteilung der Versuchstiere in den verschiedenen Altersgruppen während des 30-tägigen Beobachtungszeitraumes zeigen die Abbildungen 2, 3, 4, 5.

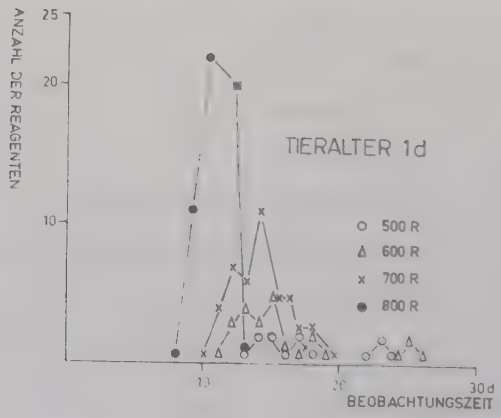

Abbildung 2: Anzahl der gestorbenen Tiere (Reagenten) während der 30-tägigen Beobachtungszeit. Alter der Tiere zum Zeitpunkt der Bestrahlung: 1 Tag.

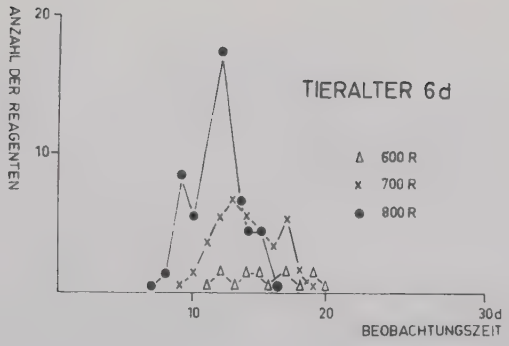

Abbildung 3: Anzahl der gestorbenen Tiere (Reagenten) während der 30-tägigen Beobachtungszeit. Alter der Tiere zum Zeitpunkt der Bestrahlung: 6 Tage.

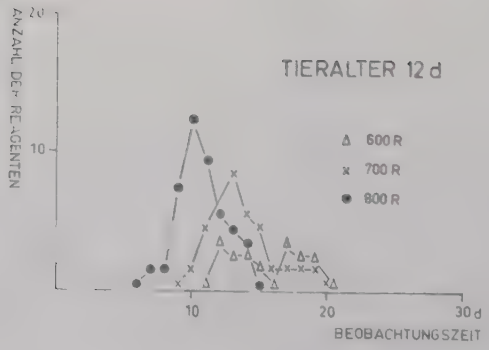

Abbildung 4: Anzahl der gestorbenen Tiere (Reagenten) während der 30-tägigen Beobachtungszeit. Alter der Tiere zum Zeitpunkt der Bestrahlung: 12 Tage.

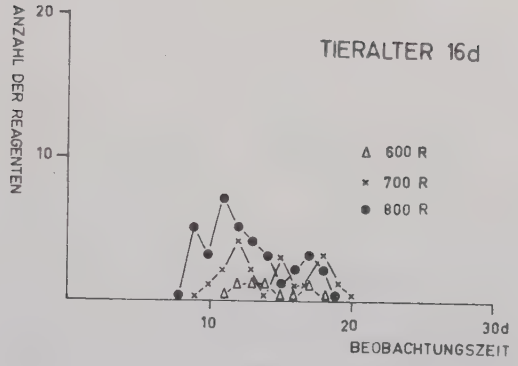

Abbildung 5: Anzahl der gestorbenen Tiere (Reagenten) während der 30-tägigen Beobachtungszeit. Alter der Tiere zum Zeitpunkt der Bestrahlung: 16 Tage.

Die Bilder stellen die Zahl der gestorbenen Tiere in Abhängigkeit von der Zeit nach der Bestrahlung und der Höhe der applizierten Dosis dar. Deutlich lassen sich in allen Abbildungen unabhängig vom Tieralter qualitativ vergleichbare Absterbeverläufe erkennen. So starb in der ersten Woche nach der Bestrahlung kein Tier. Erste Todesfälle traten als Funktion der Dosis ab dem 8. Tag auf. Bei einer im Säuglingsalter fast immer letalen Dosis von 800 R starben die Tiere, die mit dieser Dosis bestrahlt wurden, ein bis zwei Tage früher als die Mäuse, die einer geringeren Dosis ausgesetzt waren. Ein Maximum der Letalität beobachtet man zwischen dem 10. und 15. Tag.

Ab dem 20. Tag traten nur noch vereinzelte Todesfälle auf. Tiere, die diesen Zeitraum überlebten, schienen sich bis zum Ende der Beobachtungszeit vollständig vom akuten Strahlenschaden erholt zu haben. Sie zeigten zu diesem Zeitpunkt das Normalverhalten unbestrahlter Kontrollkollektive. Eine Korrektur der strahlungsbedingten Absterberaten bezüglich der Mortalität scheinbestrahlter Versuchsgruppen war nicht erforderlich. Keine von 144 Mäusen, die nur dem Behandlungstrauma und keiner Bestrahlung ausgesetzt waren, starb während der Beobachtungszeit. Auf die in den ersten Versuchsreihen regelmäßig durchgeführten Scheinbestrahlungen wurde daher in den späteren Experimenten verzichtet.

Die Absterbezeiten nach einer Ganzkörperbestrahlung lassen Schlußfolgerungen auf die Todesursache zu. So muß die auffällige Zeitkonstanz der Absterbedaten als ein Hinweis darauf gewertet werden, daß bei der jugendlichen Maus nach einer Strahlenexposition im Bereich der LD 50/30d nur e i n letaler Schädigungsmechanismus im Vordergrund steht. Vergleichende hämatologische Befunde zeigten, daß die Tiere durchschnittlich zwei Wochen nach der Strahlenexposition an einer Knochenmarksinsuffizienz sterben (BOND, FLIEDNER, ARCHAMBEAU 1965).

Charakteristische, sigmoide Kurvenverläufe erhält man, wenn man den Prozentsatz der nach 30 Tagen überlebenden Tiere als Funktion der applizierten Dosis angibt. In den Abbildungen 6, 7, 8, 9 sind die entsprechenden Dosiswirkungskurven für die vier Altersgruppen dargestellt.

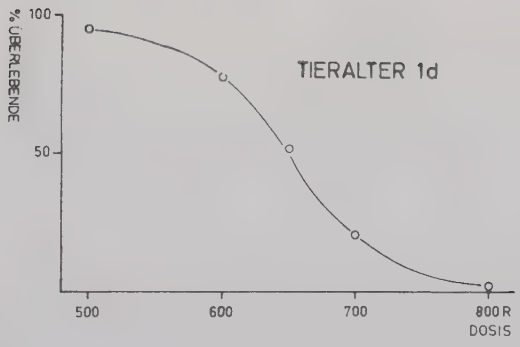

Abbildung 6: Dosis-Wirkungskurve für 1 Tag alte Mäuse. %-Satz der Überlebenden als Funktion der applizierten Dosis in Röntgen.

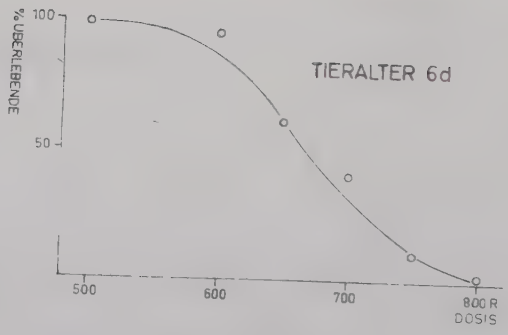

Abbildung 7: Dosis-Wirkungskurve für 6 Tage alte Mäuse. %-Satz der Überlebenden als Funktion der applizierten Dosis in Röntgen.

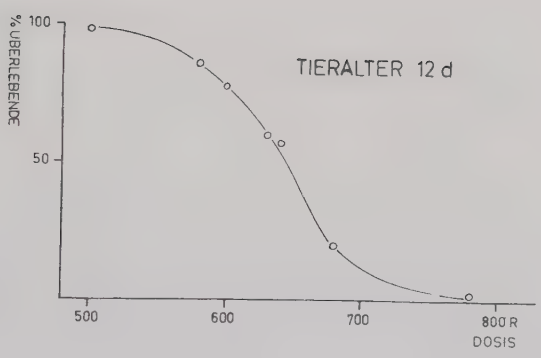

Abbildung 8: Dosis-Wirkungskurve für 12 Tage alte Mäuse. %-Satz der Überlebenden als Funktion der applizierten Dosis in Röntgen.

Die Kurven verdeutlichen, daß die Abweichungen der Strahlensensibilität von einer mittleren Strahlenempfindlichkeit bei den Versuchstieren normal verteilt war. Die Ergebnisse erlaubten daher die Anwendung des in Abschnitt 2.7. beschriebenen mathematischen Modells.

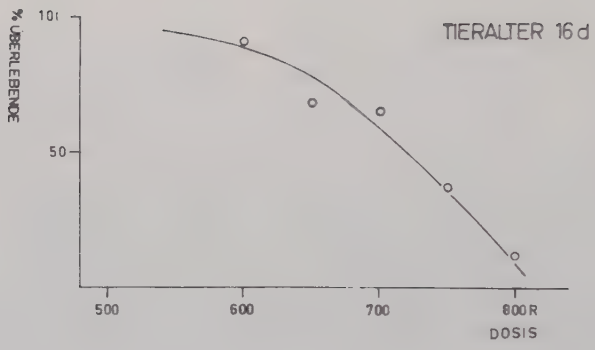

Abbildung 9: Dosis-Wirkungskurve für 16 Tage alte Tiere. %-Satz der Überlebenden als Funktion der applizierten Dosis in Röntgen.

In den folgenden Abbildungen 10, 11, 12 und 13 sind die transformierten Dosis-Wirkungskurven als Regressionsgeraden im Wahrscheinlichkeitsnetz eingezeichnet. Gleichzeitig werden die ihnen zugehörigen 95%igen Vertrauensbereiche angegeben.

Die unterschiedlichen Steigungsmassen der Probitgeraden sind ein Ausdruck für die biologische Variabilität in den Versuchsgruppen. Die Steigung der Regressionsgeraden wird umso kleiner, je heterogener die Empfindlichkeit in den untersuchten Tierkollektiven verteilt ist. Eine in der graphischen Darstellung

senkrecht verlaufende Probitgerade erhielte man, wenn die Sensibilität der Tiere gegenüber den schädigenden Strahlen in engen Grenzen liegen würde. Mit dem Überschreiten einer Schwellendosis müßten dann sämtliche Mäuse einer Versuchsgruppe reagieren. Die Dosis-Wirkungskurve nähme für diesen Fall das Aussehen einer Stufe an.

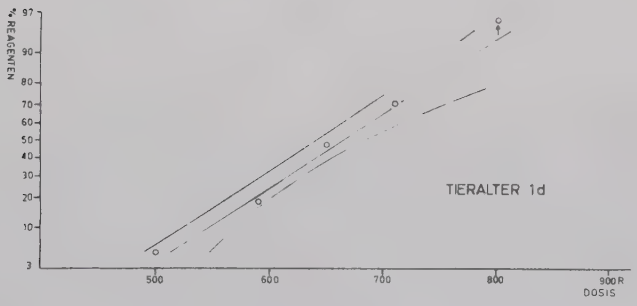

Abbildung 10: Regressionsgerade mit ihren 95%igen Vertrauensgrenzen, dargestellt im Wahrscheinlichkeitsnetz. Ordinate: nach dem Gauss'schen Integral geteilt, Abszisse: lineare Teilung der applizierten Strahlendosis in Röntgen.
Tieralter: 1 Tag.

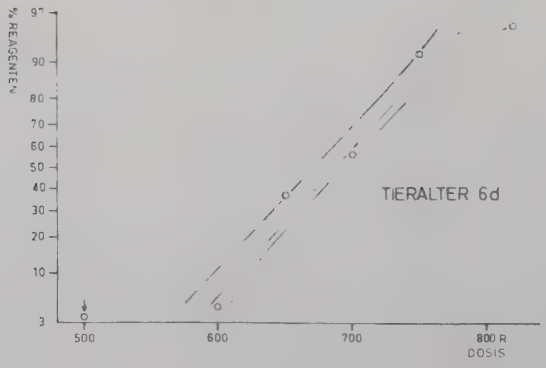

Abbildung 11: Regressionsgerade mit ihren 95%igen Vertrauensgrenzen, dargestellt im Wahrscheinlichkeitsnetz. Ordinate: nach dem Gauss'schen Integral geteilt, Abszisse: lineare Teilung der applizierten Strahlendosis in Röntgen. Tieralter: 6 Tage.

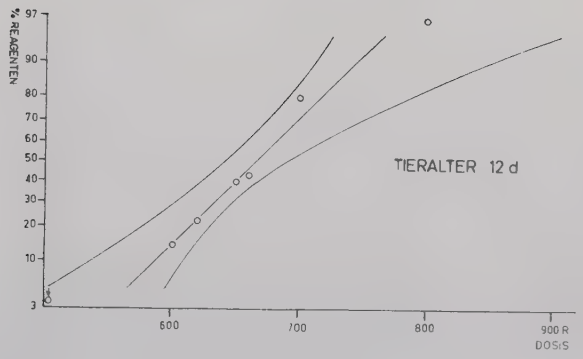

Abbildung 12: Regressionsgerade mit ihren 95%igen Vertrauensgrenzen, dargestellt im Wahrscheinlichkeitsnetz. Ordinate: nach dem Gauss'schen Integral geteilt, Abszisse: lineare Teilung der applizierten Strahlendosis in Röntgen. Tieralter: 12 Tage.

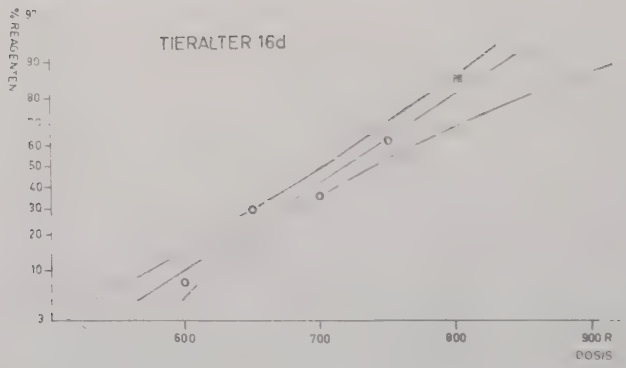

Abbildung 13: Regressionsgerade mit ihren 95%igen Vertrauensgrenzen, dargestellt im Wahrscheinlichkeitsnetz. Ordinate: nach dem Gauss'schen Integral geteilt, Abszisse: lineare Teilung der applizierten Strahlendosis in Röntgen. Tieralter: 16 Tage.

In den 4 Altersgruppen ist die Strahlenempfindlichkeit in je 2 Altersgruppen annähernd gleich variabel. Während 1 und 16 Tage alte Tiere größere Reaktionsbreiten aufweisen, ist die Heterogenität in der 6 und 12 Tage alten Tiergruppe gering. Die Steigung der Regressionsgeraden beträgt für 1 und 16 Tage alte Tiere 1,08 und 1,02 Probiteinheiten pro 100 R und für 6 und 12 Tage alte Tiere 1,70 und 1,49 Probiteinheiten pro 100 R.

3.1.2. Werte der LD 50/30d

Die LD 50/30d Werte mit den dazugehörigen 95%igen Vertrauensgrenzen sind in der Abbildung 14 für die vier Altersgruppen zusammengefaßt dargestellt. Die gefundenen Werte zeigen in den ersten drei Altersgruppen innerhalb der angegebenen Fehlerbreiten keine signifikanten Unterschiede. Mit hinreichender Genauigkeit liegen sie zwischen 650 und 700 R.

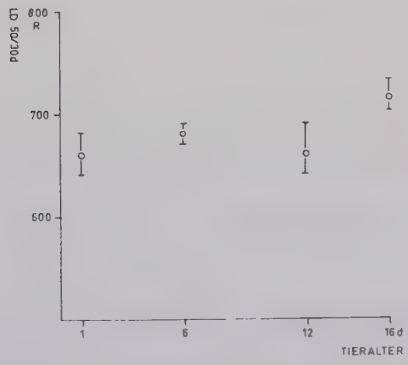

Abbildung 14: Die LD 50/30d-Werte mit ihren 95%igen Vertrauensgrenzen für die vier untersuchten Altersgruppen.

Einen Resistenzanstieg zeigen gegen Ende der Säuglingsperiode die 16 Tage alten Versuchstiere. Ihr LD 50/30d Wert liegt über 700 R. Versucht man die Ergebnisse im Zusammenhang zu interpretieren, so deuten die im Vergleich zu den Neugeborenen gleichbleibenden und bei den 16 Tage alten Tieren signifikant höheren LD 50/30d Werte auf eine Zunahme der Strahlenresistenz während der Säuglingsperiode hin.

3.2. Abhängigkeit der letalen Wirkung fraktionierter Ganzkörperbestrahlungen von den Fraktionierungsintervallen.

Die frühen Phasen der Erholung sind an rund 3 700 Mäusen untersucht worden. Die Wahl der Vorbestrahlungsdosis (D_c), der Fraktionierungsintervalle sowie die Zahl und die Höhe der Testdosen sind in Abschnitt 2.6. und in der Tabelle 2 im Anhang der Arbeit beschrieben.

3.2.1. Dosiswirkungskurven

Die Dosiswirkungskurven sind in den Abbildungen 15, 16, 17 und 18 zusammengefaßt als Regressionsgeraden im Wahrscheinlichkeitsnetz für alle Altersgruppen dargestellt. Die Regressionsgeraden wurden wie bei den einzeitigen Ganzkörperbestrahlungen durch Transformation der sigmoiden Dosis-Wirkungskurven gewonnen. Jede Regressionsgerade ist mit dem dazugehörigen Fraktionierungsintervall beschriftet. Der Übersichtlichkeit wegen wurde auf die Einzeichnungen der 95%igen Vertrauensgrenzen verzichtet. Sie sind mit weiteren

Daten in Tabelle 2 im Anhang der Arbeit angegeben. Die Regressionsgeraden wurden gestrichelt eingezeichnet, wenn die beobachteten Messpunkte wegen Heterogenität von dem Rechenprogramm abgelehnt wurden. In diesen Fällen erfolgte die Auswertung durch eine graphische Darstellung der Regressionsgeraden.

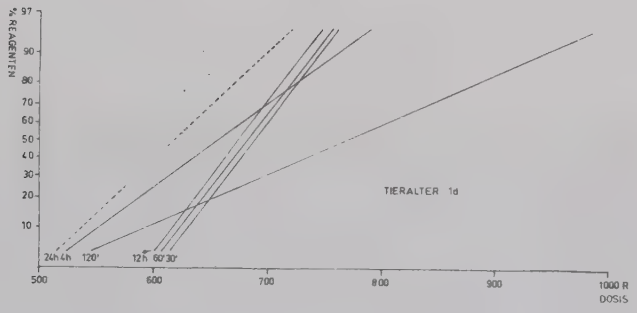

Abbildung 15: Darstellung der Regressionsgeraden mit den dazugehörigen Fraktionierungsintervallen. Tieralter: 1 Tag.

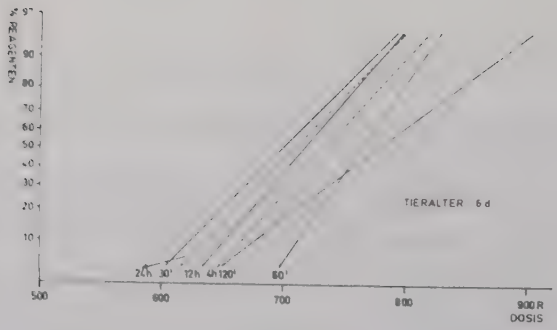

Abbildung 16: Darstellung der Regressionsgeraden mit den dazugehörigen Fraktionierungsintervallen. Tieralter: 6 Tage.

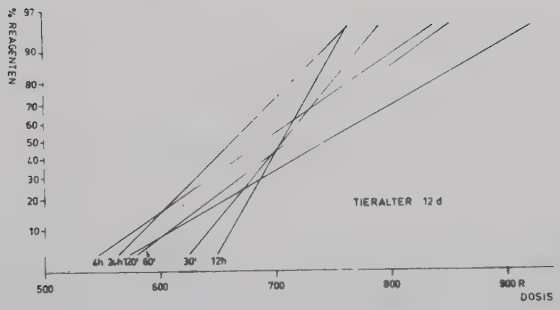

Abbildung 17: Darstellung der Regressionsgeraden mit den dazugehörigen Fraktionierungsintervallen. Tieralter: 12 Tage.

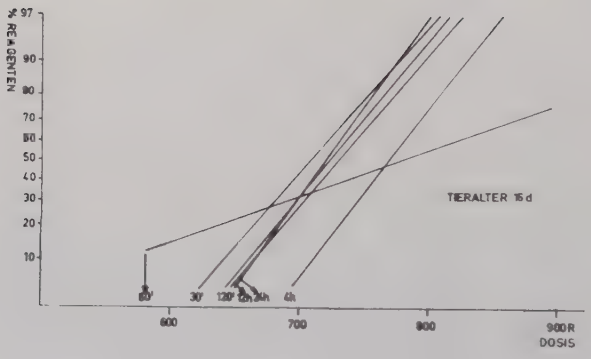

Abbildung 18: Darstellung der Regressionsgeraden mit den dazugehörigen Fraktionierungsintervallen. Tieralter: 16 Tage.

3.2.2. Werte der LD 50/30d

Um die Entwicklung der LD 50/30d Werte nach fraktionierter Bestrahlung mit denen nach einzeitigen Ganzkörperbestrahlungen vergleichen zu können, wurden die Vorbestrahlungsdosis und die mit Hilfe der Testdosen zum Zeitpunkt der Zweitbestrahlung ermittelten LD 50/30d Werte addiert. Eine graphische Wiedergabe der Ergebnisse zeigen die Abbildungen 19, 20, 21 und 22. Die linear geteilte Ordinate gibt die Dosis in Röntgen und die zeitgleich geteilte Abszisse die ausgewählten Fraktionierungsintervalle an. In das Koordinatensystem ist

die Entwicklung der LD 50/30d Werte mit ihren 95%igen Vertrauensgrenzen als Funktion der Fraktionierungsintervalle eingezeichnet worden. Bezugsgrößen sind die zum Zeitpunkt Null dargestellten Ergebnisse der einzeitigen Ganzkörperbestrahlungen. Die unterschiedliche Breite der Vertrauensgrenzen erklärt sich aus der unterschiedlichen Zahl der bestrahlten Tiere und den unterschiedlichen Dosisdifferenzen zwischen den einzelnen Testdosen. Je größer das bestrahlte Tierkollektiv und je kleiner die Dosisabstände waren, desto enger schlossen die Vertrauensgrenzen den Wert der LD 50/30d ein.

Schon nach kurzzeitigen Fraktionierungsintervallen weist der Anstieg der LD 50/30d Werte in allen Altersgruppen auf Erholungsvorgänge hin. Besonders ausgeprägt ist dieser Anstieg bei 6 Tage alten Tieren. Nach zweistündigen Pausen zwischen Vorbestrahlungsdosis und Testdosis werden mit Ausnahme der 16 Tage alten Tiergruppe die höchsten LD 50/30d Werte erreicht. Gegen Ende der Säuglingsperiode werden die Ergebnisse hinsichtlich des frühen Anstieges der Strahlenresistenz uneinheitlich. Der Wert nach zweistündigen Fraktionierungsintervallen fällt bei den 16 Tage alten Mäusen deutlich aus dem Rahmen der übrigen Ergebnisse. Dagegen lassen die 60 und 240 minütigen Bestrahlungspausen eine Resistenzerhöhung erkennen. - Ein zweiter wichtiger Befund ist nach 12 und 24 stündigen Fraktionierungsintervallen festzustellen. Auf das frühe Maximum folgt regelmäßig eine Verringerung der Strahlenresistenz. Nach längerfristigen Bestrahlungspausen zeigen die Versuchstiere die gleiche oder

eine höhere Strahlensensibilität im Vergleich zur einzeitigen Ganzkörperbestrahlung. Besonders auffällig sind die Schwankungen der Strahlenempfindlichkeit bei den 1 Tag alten Mäusen.

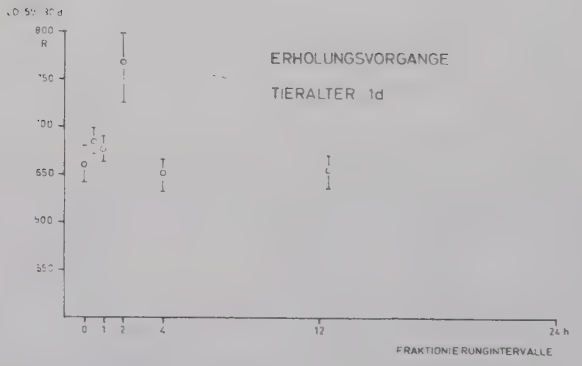

Abbildung 19: Die Entwicklung der LD 50/30d Werte als Funktion der Fraktionierungsintervalle. Ordinate: linear geteilt, Dosis in Röntgen, Abszisse: zeitgleich geteilt in Stunden. Tieralter: 1 Tag.

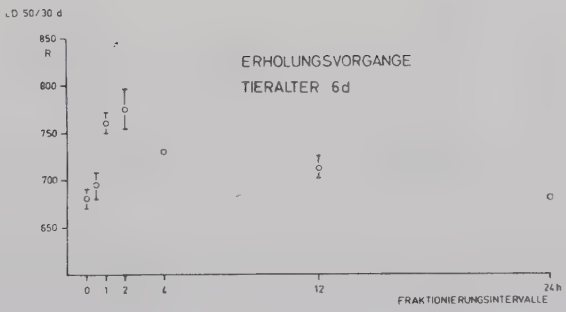

Abbildung 20: Die Entwicklung der LD 50/30d Werte als Funktion der Fraktionierungsintervalle. Ordinate: linear geteilt, Dosis in Röntgen, Abszisse: zeitgleich geteilt in Stunden. Tieralter: 6 Tage.

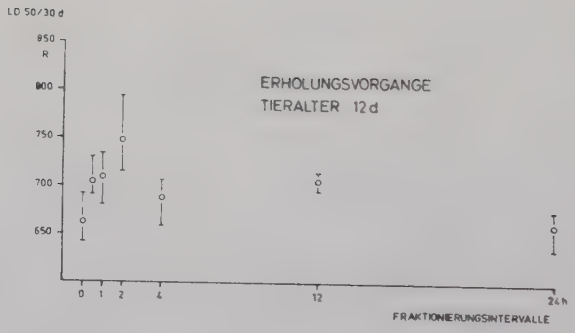

Abbildung 21: Die Entwicklung der LD 50/30d Werte als Funktion der Fraktionierungsintervalle. Ordinate: linear geteilt, Dosis in Röntgen, Abszisse: zeitgleich geteilt in Stunden. Tieralter: 12 Tage.

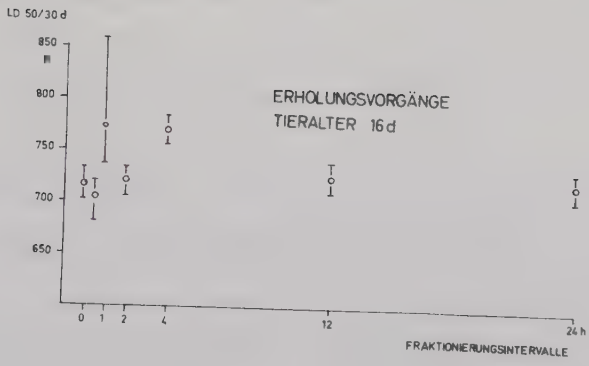

Abbildung 22: Die Entwicklung der LD 50/30d Werte als Funktion der Fraktionierungsintervalle. Ordinate: linear geteilt, Dosis in Röntgen, Abszisse: zeitgleich geteilt in Stunden. Tieralter: 16 Tage.

3.2.3. Erholungsraten

Noch klarer wird dieser Zusammenhang, wenn man die Erholungsraten berechnet (siehe Abschnitt 2.7.). Ihre graphische Darstellung in Abbildung 23 vermittelt anschaulich den qualitativ gleichförmigen Erholungsverlauf in den ersten drei Altersgruppen. Der frühen und schnellen Resistenzerhöhung folgt ein bis zum Ende der Untersuchungszeit andauernder Abfall. Die

großen Empfindlichkeitsunterschiede bei den 1 Tag alten Tieren konnten in wiederholten "split dose" Experimenten bestätigt werden. In den ersten Versuchen wurde die nach 24 Stunden vermutete LD 50/30d zu hoch geschätzt, so daß die eingestrahlten Testdosen zum Absterben aller Tiere in den Versuchsgruppen führten.

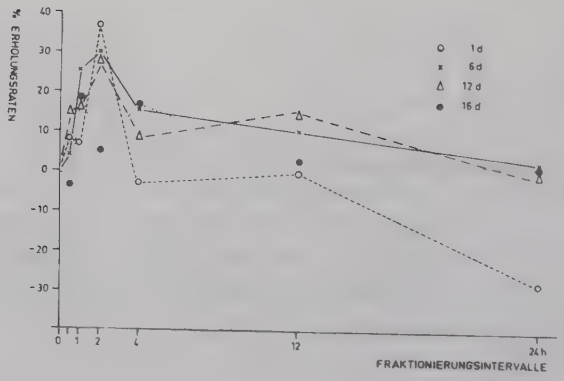

Abbildung 23: Die Erholungsraten nach einer Vorbestrahlungsdosis (D_c : 300 R) bei Fraktionierungsintervallen bis zu 24 Stunden. Ordinate: Erholungsraten in % der D_c, Abszisse: Zeit in Stunden.

Die 16 Tage alten Tiere markieren mit dem Ende der Stillzeit auch das Ende der Säuglingsperiode. In diesem Tierkollektiv ließ sich das frühe Maximum der Strahlenresistenz nicht so deutlich nachweisen wie in den jüngeren Altersgruppen. Längerfristige Fraktionierungsintervalle ergaben jedoch den gleichen Abfall der Strahlenresistenz.

3.3. Zusammenfassung und Vergleich der letalen Wirkung einzeitiger und fraktionierter Bestrahlungen.

Die letale oder subletale Strahlenschädigung nach Bestrahlungen im Bereich der LD 50/30d ist unabhängig vom Bestrahlungsmodus auf eine Schädigung der hämatopoetischen Gewebe zurückzuführen. Neben den makroskopischen Befunden, die auf eine deutlich sichtbare Anämie der nackten Tiere im akuten Strahlenschaden hinwiesen, bestätigten die gleichmäßigen Mortalitätsverteilungen während des 30tägigen Beobachtungszeitraumes diese Annahme. - Mit den "split dose" Experimenten konnte gezeigt werden, daß auf einen frühen Anstieg der Strahlenresistenz regelmäßig eine Abnahme folgte, wobei 24 Stunden nach einer Strahlenexposition noch keine Erholung vom Strahlenschaden festzustellen war. Unabhängig vom Alter entsprach oder übertraf die Strahlensensibilität der Tiere nach 24stündigen Fraktionierungsintervallen dem Wert einzeitiger Ganzkörperbestrahlungen. Mit diesem Befund bleibt die Frage offen, wann sich die jugendliche Maus bleibend vom Strahlenschaden zu erholen beginnt.

4.0. Diskussion

4.1. Faktoren, die die Strahlenempfindlichkeit beeinflussen und ihre möglichen Auswirkungen auf die gewonnenen Versuchsergebnisse.

Die schädigenden Wirkungen energiereicher Strahlen werden ausser von der Reaktionsweise der blutbildenden Systeme durch zusätzliche Faktoren beeinflußt. Die Mortalität der Tiere kann sowohl durch die Variation physikalischer Bestrahlungsparameter als auch durch tiereigene Faktoren, die die biologische Reaktionslage der Tiere betreffen, verändert werden. Im folgenden sollen die wichtigsten dieser Faktoren und ihre Berücksichtigung bei der Durchführung der Experimente diskutiert werden, wobei zunächst auf die physikalischen und anschließend auf die tiereigenen Faktoren eingegangen werden soll.

4.1.1. Physikalische Faktoren

Die Bezeichnung "Ganzkörperbestrahlung" darf verwendet werden, wenn das zu bestrahlende Versuchstier einer energiereichen Strahlung ausgesetzt ist und eine möglichst homogene Dosisverteilung im gesamten Organismus erreicht wird (siehe DIN 6814, Blatt 5, Begriffe und Benennungen in der radiologischen Technik, Strahlenschutz). Diese Bedingungen konnten durch die Wahl der Strahlenqualität und durch das geringe Körpervolumen sowie Gewicht der Versuchstiere erfüllt werden.

Nur bei der 16 Tage alten Tiergruppe waren abweichend von diesen Voraussetzungen Dosisinhomogenitäten denkbar. - Gegen Ende der Säuglingsperiode ist die Mineralisation der Knochengewebe weit fortgeschritten. Unter den gegebenen Bestrahlungsbedingungen konnte deshalb eine gute Homogenität der Dosisverteilung im Weichgewebe des Tierkörpers, aber durch die schützende Absorption der Strahlung in den kalzifizierten Knochenkompakten eine relativ abgeschwächte Dosiswirkung innerhalb des Knochenmarks, erwartet werden. Die Blutbildungsstätten 16 Tage alter Tiere haben daher möglicherweise eine geringere Strahlenschädigung erfahren als die knorpelig umschlossenen Knochenmarkshöhlen 1, 6 und 12 Tage alter Tiere. Dieser Effekt mag eine Deutung für den Anstieg der Strahlenresistenz gegen Ende der Säuglingsperiode sein.

Die biologische Wirksamkeit einer Strahlenexposition wird außer von der Strahlenqualität wesentlich von der pro Zeiteinheit eingestrahlten Dosis, der Dosisleistung, beeinflußt. Viele Untersucher (THOMSON, TOURTELLOTTE 1953; KALLMAN 1962; HEUSS 1967; u.a.) konnten in guter Übereinstimmung eine Korrelation zwischen der Dosisleistung und der mittleren Überlebenszeit herstellen. Die Befunde ergaben, daß bei gleicher Gesamtdosis in einem Dosisleistungsbereich zwischen 2 R/min und 500 R/min drei Abschnitte zu unterscheiden sind. Im ersten Abschnitt verringern sich mit steigender Dosisleistung in einem Dosisleistungsbereich zwischen 2 und 18 R/min die LD 50/30d Werte um 100 R bis 150 R (KALLMAN 1962). Diese Abhängigkeit der biologischen Reaktionen von der Dosisleistung

fehlt bei Bestrahlungen mit 20 R/min bis etwa 50 R/min. Im dritten Dosisleistungsbereich von etwa 50 R/min bis 500 R/min beschreibt LOGIF 1960 den gleichen strahlenbiologischen Effekt, wie er im ersten Abschnitt beobachtet wurde.

Die bei den eigenen Untersuchungen benutzte Dosisleistung von 44 R/min liegt im mittleren Bereich, der nach den vorliegenden Literaturangaben keine von der Dosisleistung abhängige Reaktionen zeigte. Gleichzeitig war sie groß genug, um die erforderlichen Dosen kurzzeitig zu applizieren. Die maximale Bestrahlungszeit betrug etwa 20 Minuten.

4.1.2. Tiereigene Faktoren

Im folgenden sollen die Faktoren diskutiert werden, die das Ausmaß der Strahlenschädigung modifizieren können und deren Einfluß in der Versuchsplanung und Versuchsauswertung berücksichtigt werden konnte.

4.1.2.1. Tieralter

Über Untersuchungen zur Strahlenempfindlichkeit des Säugetierorganismus in Abhängigkeit vom Tieralter wurde in der Literatur häufig berichtet. Auffallend wenig wurde jedoch die Säuglingsperiode beachtet. Gerade in diesem Lebensabschnitt ist aber durch das Wachstum des jugendlichen Organismus im Vergleich zu erwachsenen Tieren eine größere Variation der Strahlenempfindlichkeit zu erwarten. Entsprechend dieser Überlegung mußte vor der Durchführung der eigentlichen Unter-

suchungen zur Frage der Erholungsfähigkeit ausführlich der Verlauf der LD 50/30d Werte in Abhängigkeit vom Alter der Versuchstiere bestimmt werden.

Veröffentlichungen, in denen Angaben über die Strahlenempfindlichkeit während der ersten 20 Tage gemacht werden, liegen vor von ABRAMS 1951, CROSFILL, LINDOP und ROTBLAT 1959, SMITH und ALDERMAN 1963, LANGENDORFF 1966. Die meisten der Untersucher (STORER 1965, KOHN und KALLMAN 1956, YUHAS, HUANG, STORER 1969, SACHER 1957, SPALDING und TRUJILLO 1962, RUGH und PARDO 1963, JOHNSON 1964) verzichteten allerdings auf eine genauere Analyse der Säuglingsperiode.

ABRAMS bestrahlte Mäuse im Alter von 1, 15 und 30 Tagen nach der Geburt mit einer Einzeldosis von 550 R. Die Überlebensraten der Tiere schwankten erheblich. Während von den jüngeren Tieren 70 % am 30. Tag nach der Strahleneinwirkung noch am Leben waren, überlebten von den 30 Tage alten Tieren nur 10 %. Daraus zog er den Schluß, daß seine Versuchstiere am 1. und 15. Tag strahlenresistenter als am 30. Tag nach der Geburt waren. Diese Befunde stimmten qualitativ mit denen von CROSFILL, LINDOP und ROTBLAT überein. Für die von diesen Autoren im Alter von 1, 7 und 28 Tagen bestrahlten Mäuse (15 MeV-Röntgenstrahlen, Mäusestamm SAS/4) ergaben sich LD 50/30d Werte von 850 R, 850 R und 709 R. Auffällig ist die hohe Strahlenresistenz während der Säuglingsperiode gegenüber den ersten Wochen nach der Entwöhnung der Jungtiere von der Mutter. - H. LANGENDORFF und M. LANGENDORFF (1954) bestrahlten im Rahmen ihrer Untersuchungen über die Wirkungen von Strah-

lenschutzsubstanzen Mäuse mit 150 kV Röntgenstrahlen im Alter von 1, 10, 20 und 30 Tagen. Die aus ihren Überlebensraten geschätzten LD 50/30d Werte betrugen 503, 470, 506 und 421 R. Auch hier ist die Strahlenresistenz noch säugender Mäuse höher als die entwöhnter Tiere 1 Monat nach der Geburt. Im Unterschied zu den beschriebenen Versuchen stellten SMITH und ALDERMAN keine signifikanten Änderungen der Strahlenresistenz bei Mäusen im Alter von 2 und 4 Wochen fest. Ihre LD 50/30d Werte lagen zwischen 440 R und 420 R. - Den zitierten Befunden ist gemeinsam, daß die Strahlenresistenz während der Säuglingsperiode unabhängig vom Alter fast gleichbleibend hoch ist, um nach der Entwöhnung der Jungtiere von der Mutter und der damit verbundenen Umstellung der Ernährung abzufallen.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen, soweit sie mit gleichen Altersstufen verglichen werden, in ähnlicher Weise ein gleichbleibendes Niveau der Strahlenempfindlichkeit während der Säuglingsperiode erkennen. So unterscheiden sich die LD 50/30d Werte 1, 6, 12 Tage alter Tiere nicht signifikant von einander. Die LD 50/30d Werte von CROSFILL, LINDOP und ROTBLAT führen nach entsprechender Korrektur hinsichtlich der unterschiedlichen biologischen Wirksamkeit der von ihnen benutzten ultraharten Röntgenstrahlen im Vergleich zur 200 kV Röntgenstrahlung zu fast quantitativ mit den eigenen Ergebnissen vergleichbaren Werten.

Ein signifikanter Anstieg der Strahlenresistenz wurde gegen Ende der Säuglingsperiode gefunden. Mit dieser Altersstufe

vergleichbare Werte fehlen in der Literatur. Die von ABRAMS an 15 Tage alten Tieren erhobenen Befunde lassen keine Rückschlüsse auf die eigenen Ergebnisse zu, da der Autor nur eine einzige Dosis zur Beurteilung der Strahlenempfindlichkeit in Abhängigkeit vom Alter applizierte. Eine befriedigende Erklärung für den in wiederholten Versuchen ermittelten Resistenzanstieg kann hier nicht gegeben werden. Eine gewisse Bedeutung mag der erwähnten,weitgehenden Differenzierung der Organstrukturen gegen Ende der Säuglingsperiode zukommen.

4.1.2.2. Geschlecht

Bei der Planung der Versuche war zu prüfen, ob im Rahmen der Untersuchungen eine Analyse der geschlechtsspezifischen Strahlensensibilität erforderlich ist. Es liegt nahe, den Sexualhormonen einen Einfluß auf die Strahlenempfindlichkeit zuzuschreiben. In der Literatur liegen zu dieser Fragestellung eine Anzahl von Untersuchungen vor. Für die hier interessierende Säuglingsperiode fehlen jedoch weitgehend Angaben.

Bei erwachsenen Mäusen beobachteten LINDOP, ROTBLAT 1961, FOWLER 1963 eine geringfügig höhere Strahlenresistenz der Weibchen. Statistisch ließen sich diese Unterschiede jedoch nicht sichern. GRAHN und HAMILTON 1957 bestimmten die LD 50/30d Werte für verschiedene Mäusestämme. Sie konnten stammesbedingte, aber keine geschlechtsspezifischen Unterschiede der Strahlensensibilität feststellen. Obgleich Angaben über die Säuglingsperiode fehlen, geben die von RUCH und WOHLFROMM 1965 intrauterin durchgeführten Be-

strahlungen von Mäuseföten keinen Hinweis auf postnatale Mortalitätsunterschiede zwischen männlichen und weiblichen Mäusen. Bei 1 309 untersuchten Tieren mit einem Anteil von 52 % Männchen und 48 % Weibchen zeigte die Sterblichkeit der Mäuse keinen statistisch signifikanten Einfluß des Geschlechtes während der ersten 30 postnatalen Lebenstage. Einen vom Geschlecht abhängigen Effekt konnten KOCH und SEITER 1965 bei ihren Untersuchungen über den Eiseneinbau in Erythrozyten bei erwachsenen Mäusen nachweisen. Die ^{59}Fe-Utilisation war bei den Weibchen nach einer Strahlenbelastung mit verschiedenen Dosen unter 100 R signifikant höher als bei den Männchen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die diskutierten Arbeiten keine eindeutige Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit vom Geschlecht aufzeigen. Geringe Unterschiede können allerdings nicht ausgeschlossen werden, wie auch die Untersuchungen zum Strahlenschutz durch Östrogene zeigten (LANGENDORFF 1954). Sie sind jedoch ohne Einfluß auf die Mortalität der Tiere im akuten Strahlenschaden.

Bei den eigenen Versuchen wurde aus zwei wesentlichen Gründen auf eine vom Geschlecht abhängige Analyse der strahleninduzierten Sterblichkeit verzichtet. Erstens ist die Produktion von Sexualhormonen vor der Geschlechtsreife so gering, daß sie einen vernachläßigbaren Einfluß auf die Strahlenempfindlichkeit der Tiere ausüben dürfte. Zweitens ergab sich während der Durchführung der Versuche, daß eine Differenzierung der gestorbenen Tiere in Weibchen und Männchen oft nicht möglich gewesen wäre, da viele der gestorbenen Jungtiere von den

Müttern abgenagt oder fast vollständig aufgefressen wurden.

4.1.2.3. Gewicht

Die Gewichtsentwicklung jugendlicher Mäuse ist unmittelbar mit ihrem Wachstum verbunden. Damit konnte eine Beziehung zwischen dem Gewicht und der Strahlenempfindlichkeit bestehen.

KOHN und KALLMAN beschäftigten sich bereits 1956 mit diesem Problem. Sie fanden einen linearen Zusammenhang zwischen dem Anstieg der LD 50/30d und der Gewichtszunahme bei Mäusen (Stamm CAF_1) im Alter von 37 bis 105 Tagen. Erst als im Alter von über 105 Tagen die Gewichtskurven flacher verliefen, blieben von diesem Zeitpunkt an auch die LD 50/30d Werte bis zum Alter von 640 Tagen konstant. Auf eine ähnliche Beziehung wiesen LINDOP und ROTBLAT 1962 hin. Bei ihnen fallen das Maximum der Strahlenresistenz annähernd mit dem Maximum des Körpergewichts zusammen. Bei ihrem Tierstamm (SAS/4) ist dies nach rund einem Jahr der Fall.

Der Versuch, eine Korrelation zwischen den Wachstumsraten, d.h. dem auf die Zeiteinheit bezogenen Gewichtszuwachs und der Strahlenempfindlichkeit herzustellen, ist besonders für die Interpretation der Verhältnisse während der jugendlichen Wachstumsphase wichtig. In dieser Periode durchlaufen die Wachstumsraten ihr Maximum. Die bisher vorliegenden Befunde sind jedoch für diesen Lebensabschnitt nicht einheitlich. Während LINDOP und ROTBLAT 1962 zum Zeitpunkt der höchsten

Wachstumsraten nach 28 bis 30 Tagen auch die höchste Strahlenempfindlichkeit finden, fielen im Gegensatz dazu die höchsten Wachstumsraten bei Ratten (REINCKE 1966) mit einem Maximum der Strahlenresistenz zusammen. Die bislang veröffentlichten Daten reichen noch nicht aus, um eine eindeutige Beziehung zwischen der Strahlenempfindlichkeit und den Wachstumsraten zu belegen.

In den eigenen Versuchen ist die Wachstumsgeschwindigkeit zwischen 1 und 6 Tage alten Tieren mit einer Wachstumsrate von 16 % am größten, um dann zwischen 6 und 12 Tagen auf 9 % und zwischen 12 und 16 Tagen auf 7 % abzufallen. In dieser frühen Entwicklungsphase deutet der Verlauf der LD 50/30d Werte darauf hin, daß gegen Ende der Säuglingsperiode, wenn die Differenzierung der Organsysteme weitgehend vollzogen und die Tiere geringere Wachstumsraten aufweisen, auch die Strahlenresistenz ein Maximum erreicht. In der Tendenz scheinen diese Ergebnisse daher eher die von REINCKE erhobenen Befunde zu bestätigen.

4.1.2.4. Hämatopoetisches System

Werden Mäuse einer Strahlenbelastung von 500 R bis 800 R ausgesetzt, so steht die Schädigung des Knochenmarks im Vordergrund. Meßbar wird dieser Insult durch die Abnahme der zellulären Bestandteile im peripheren Blut. Typisch für das Knochenmarkssyndrom im Bereich des akuten Strahlenschadens ist die Latenzzeit zwischen dem Strahleninsult und dem Auftreten

der ersten Todesfälle. So beträgt die mittlere Überlegenszeit nach einer Schädigung der blutbildenden Systeme in Abhängigkeit von der applizierten Dosis 8 bis 15 Tage. Eindeutige Beweise für die Bedeutung des Knochenmarks wurden durch Untersuchungen erbracht, in denen die Transplantation von rund 1 % isologen Knochenmarks die Versuchstiere nach einer letalen Strahlenbelastung überleben ließ (ELKIND, SUTTON, MOSES 1961).[1)]

Den Mechanismus der Strahlenwirkung stellt man sich so vor, daß die ionisierenden Strahlen selektiv diejenigen Zellen des Knochenmarks schädigen, die sich in strahlenempfindlichen Phasen des Zellteilungszyklus befinden. Der Funktionsausfall betrifft dabei sowohl die für die Erythropoese und Myelopoese erforderlichen Stammzellen als auch die Megakaryocyten. Das Ausmaß der Strahlenschädigung kann sich entweder in einer vollständigen Zerstörung der Zelle oder im Verlust ihrer Teilungsfähigkeit manifestieren. Uneingeschränkt funktionsfähig bleiben nur diejenigen Stammzellen des Knochenmarks, die sich während der Strahlenexposition in zellulären Arbeitsphasen (S-Phasen) befunden haben.

Der selektive Ausfall teilungsbereiter Stammzellen in prämitotischen G_1 und G_2-Phasen führt zu einer vorübergehenden Synchronisation des Zellteilungsrhythmus der Knochenmarkszellen. Nach ein bis zwei Teilungszyklen ist jedoch, wie man

---

1) Zusammenfassende Darstellungen zur Pathologie des Knochenmarkssyndroms mit vielen Literaturzitaten finden sich bei BOND, FLIEDNER, ARCHAMBEAU 1965 und im Sonderband der Strahlentherapie " Hämatologische Befunde beim akuten Strahlensyndrom ", Band 56, 1964.

aus in vitro Versuchen weiß (LETTRE 1968), die Synchronisation aufgehoben. Die Mitosehäufigkeit ist dann wieder heterogen im Knochenmarksgewebe verteilt.

Nach der Strahlenexposition kommt es im Knochenmark innerhalb kurzer Zeit zu einer starken Verminderung der regenerationsfähigen Knochenmarkszellen. FLIEDNER 1956 ermittelte bei Ratten eine Abnahme um 80 % innerhalb von 3 Tagen nach einer letalen Strahlendosis von 1 000 R. Dagegen ist die Schädigung der im Blut kreisenden, differenzierten Blutzellen nicht einheitlich. Während Leukozyten und Lymphozyten strahlenempfindlich sind und sich ihre Zahl rasch vermindert, ist ein steiler Abfall der Erythrozytenzahl erst um den 10. Tag nach der Strahlenexposition zu beobachten. - Die starke Reduzierung der Zellzahl vermag im Sinne eines Rückkopplungsmechanismus auf die Regeneration des Knochenmarks zu wirken. Während im Normalzustand das Knochenmark gerade so viel Zellen bildet, wie zur Neubildung der abgestorbenen Blutelemente notwendig ist, sollen nach der Strahlenschädigung die funktionsfähig gebliebenen Stammzellen mit einem ungehemmten, logarithmischen Wachstum beginnen. Reicht die Zahl der regenerationsfähigen Stammzellen nicht aus, um den zum Leben notwendigen Mindestbedarf an Blutbestandteilen zu ersetzen, stirbt das Tier. Umgekehrt überlebt es, wenn das funktionsfähig gebliebene Knochenmark den lebensnotwendigen Mindestbedarf an Blutzellen zu erhalten vermag.

Die zeitkonstanten Mortalitätsverteilungen aller in den eigenen Versuchen bestrahlten Tierkollektive sowie die bei den

nackten Jungtieren makroskopisch sichtbaren Anämien bestätigen trotz fehlender hämatologischer Untersuchungen, daß der Tod der Versuchstiere durch eine Insuffizienz des Knochenmarks verursacht wurde.

4.1.2.5. Gastrointestinaltrakt

Neben dem Knochenmarksgewebe sind die Epithelien des Magendarmtraktes auf Grund ihrer hohen Mitoseraten besonders strahlenempfindlich. Nach Strahlenbelastungen in einem Dosisbereich zwischen 1 000 R und 10 000 R sterben Mäuse 3 bis 5 Tage nach der Strahlenexposition. RAJEWSKY und Mitarbeiter beschrieben dieses Absterbeverhalten als "3,5 Tage-Effekt". QUASTLER (1956) korrelierte den Tod der Tiere mit einer Schädigung der Magen- und Darmepithelien und bezeichnete das Krankheitsbild als "Gastrointestinalsyndrom". Er vermutet die Todesursache in Elektrolytverlusten durch das geschädigte Epithel. In der Folgezeit sind eine Fülle von Veröffentlichungen zum Problem des Gastrointestinalsyndroms erschienen. [1)]

Obwohl die symmetrische Verteilung der Dosen um die vermutete LD 50/30d auch Effekte erwarten ließ, die dem Gastrointestinalsyndrom zuzuordnen gewesen wären, wurden bei den bestrahlten Mäusen nur Todesfälle beobachtet, die auf eine

---

1) Eine neuere, umfangreiche Zusammenfassung zur strahlungsbedingten Schädigung des Magendarmtraktes findet sich bei SULLIVAN 1968.

Schädigung der blutbildenden Systeme zurückzuführen waren. Selbst letale Strahlenbelastungen von 800 R verursachten keine anderen als die beschriebenen hämatologischen Effekte.

4.1.2.6. Tageszeit

Auf die Möglichkeit, daß sich die Strahlenempfindlichkeit mit der Tageszeit verändert, wies zuerst PIZZARELLO (1963) hin. Er bestrahlte 20 anästhesierte Ratten mit einer Dosis von 900 R morgens um 09.00 Uhr und die gleiche Zahl von Versuchstieren abends um 21.00 Uhr. Während die morgens bestrahlten Tiere 130 Tage und mehr überlebten, starben die nachts bestrahlten Tiere innerhalb von 13 Tagen. Aus diesen Ergebnissen leitete PIZZARELLO tageszyklische Schwankungen der Strahlensensibilität ab. Von anderen Experimentatoren wurde versucht, dieses erstaunliche Ergebnis an größerem Tiermaterial mit hinreichender statistischer Sicherheit nachzuvollziehen (RUGH 1963, PETERS 1963, FOCHEM 1967, REINCKE 1968). Bedeutsam dürften allerdings nur die Befunde von RUGH sein. Er bestrahlte 2 347 Mäuse zweier verschiedener Stämme (CF_1 und ICR) und unterschiedlichen Geschlechts in einem Dosisbereich um die LD 50/30d zu verschiedenen Tageszeiten. Seine Ergebnisse geben keinen Hinweis darauf, daß eine Bestrahlung während der Abendstunden schädlicher ist als morgens. RUGH kann keinerlei tageszyklischen Veränderungen der Strahlenempfindlichkeit nachweisen. Ergebnisse weiterer Untersuchungen zu dieser Fragestellung von PETERS, FOCHEM haben im Vergleich zu den Befunden

von RUGH einen geringen Aussagewert.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der Einfluß des Tagesablaufes auf die Aktivitätsrhythmen und den Stoffwechsel der Tiere außer Frage steht. Die Bedeutung dieser tageszyklischen Abhängigkeit auf die Strahlenempfindlichkeit scheint jedoch so gering zu sein, daß dadurch die Mortalität nach einer Strahlenexposition nicht signifikant verändert wird.

Da über tageszyklische Schwankungen der Strahlenempfindlichkeit bei Jungtieren bislang keine Untersuchungen vorliegen, wurde bei der eigenen Versuchsdurchführung Wert darauf gelegt, die Bestrahlungen nur in den Vormittagsstunden zwischen 08.00 und 13.00 Uhr durchzuführen. Im Rahmen der Experimente zur Frage der Erholungsfähigkeit ließ die Wahl der Fraktionierungsintervalle Bestrahlungen innerhalb dieses Zeitraumes nicht mehr zu. So lag der Zeitpunkt der Zweitbestrahlung nach 12 stündigen Fraktionierungsintervallen in allen Altersgruppen zwischen 21.00 Uhr und 24.00 Uhr. Auch bei diesen nächtlichen Bestrahlungen ließen die Ergebnisse keinen signifikanten Hinweis auf eine Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit von der Tageszeit erkennen.

4.2. Erholungsvorgänge

4.2.1. Erläuterung des Begriffes Erholung

Formal können die Erholungsvorgänge als die Summe aller biologischen Reaktionen gedeutet werden, die zur Verringerung

eines Strahlenschadens führen. Quantitativ ermitteln läßt sich das Ausmaß der Erholung sowie ihr zeitlicher Verlauf mit Hilfe der in den Abschnitten 2.4. und 2.7. ausführlich erläuterten "split dose" Technik. HAGEN und SIMMONS fanden in ihren ersten orientierenden Untersuchungen zur Frage der Erholungsfähigkeit, daß von der Vorbestrahlung herrührende Restschaden in einen reparablen und in einen irreparablen Anteil differenziert werden kann. (Abbildung 24).

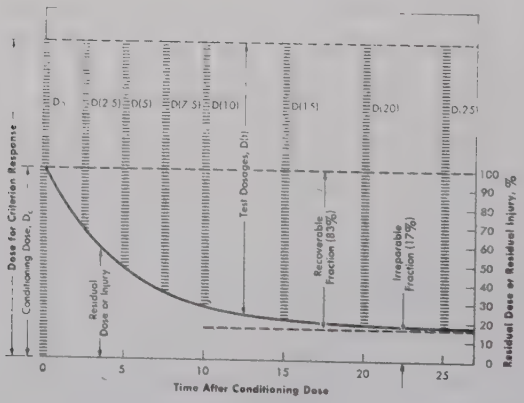

Abbildung 24: Kurvenverlauf des von einer Vorbestrahlung (Conditioning dose, D_c) herrührenden, prozentualen Restschadens als Funktion der Zeit. Der Erholungsverlauf wird durch die BLAIR'sche Gleichung beschrieben.
HAGEN, SIMMONS 1947

Während bis zu 25 Tagen nach der Strahlenexposition eine schnelle Abnahme des Strahlenschadens erkennbar war, verblieb über diesen Zeitraum hinaus ein irreparabler Anteil, der sich als latente Strahlenschädigung in Spätschäden manifestieren kann (SACHER 1958).

Während im deutschen Schrifttum die Verringerung des Strahlenschadens ausschließlich mit dem Begriff "Erholung" beschrieben wird, werden in der angelsächsischen Literatur die Erholungsvorgänge in "recovery"- und "repair"- Mechanismen unterschieden (ELKIND 1960, BOND, FLIEDNER, ARCHAMBEAU 1965). Im Bereich der reparablen Strahlenschädigung fand ELKIND, daß sich überlebende, aber geschädigte Zellen unmittelbar und ohne zeitliche Verzögerung vom subletalen Strahlenschaden erholen. Diesen Vorgang der intrazellulären Erholung kennzeichnet ELKIND als "recovery". Davon streng unterschieden werden die "repair"- Mechanismen. Sie sind für die zelluläre Repopulation des Organismus verantwortlich; d.h., daß diejenigen Stammzellen, die den Strahleninsult überleben und ihre Teilungsfähigkeit behalten, den Ausfall der letal geschädigten Zellen durch logarithmische Proliferation zu beheben versuchen. Diese "repair" Vorgänge sind sicherlich eingebettet in bislang wenig bekannte Rückkopplungs- und Steuerungsmechanismen.

4.2.2. Modelle zur Erklärung der Erholungsvorgänge

4.2.2.1. Exponentialmodell

Vor 50 Jahren hat KINGERY (1920) im Zusammenhang mit Untersuchungen zur Entstehung und zum Verlauf von Hauterythemen nach Röntgenbestrahlung die Hypothese aufgestellt, daß der Erholung ein exponentiell verlaufender Prozeß zu Grunde liegt. Nach einer Dosis, die ein Hauterythem verursachte (Erythemdosis), bestimmte er die Zeit, nach der zur Erzeugung des gleichen Effektes eine zweite Dosis mit dem halben Wert der Initialdosis gegeben werden konnte. In Fortsetzung dieser Versuche befaßten sich QUIMBY und MC COMB 1936 mit der Erholungsfähigkeit der menschlichen Haut nach Röntgenbestrahlungen. Auch sie benutzten eine fraktionierte Bestrahlungstechnik, glaubten allerdings, eine lineare Abnahme des Strahlenschadens gefunden zu haben. Mit der Erschließung der Atomenergie gewann das Problem der Erholungsvorgänge nach Ganzkörperbestrahlungen große praktische Bedeutung. HAGEN und SIMMONS (1946) untersuchten als erste diese Fragestellung. In Abbildung 24 sind die Schlußfolgerungen, die die Autoren aus ihren Untersuchungen zogen, dargestellt. Aus der abnehmenden Höhe des Restschadens als Funktion der Zeit nach der Vorbestrahlung nahmen sie in einem einfachen Modell an, daß der von der Conditioning Dose herrührende Restschaden exponentiell mit der Zeit nach der Strahlenbelastung abfällt.

$$I = e^{-\beta t}$$

I : der von der Vorbestrahlung herrührende Restschaden, "injury",

ß : konstante Rate, mit der sich der Restschaden verringert,

t : Zeit nach Applikation der Conditioning Dose.

Aus ihren Ergebnissen schätzten die Autoren die Erholungsrate auf 8,2 %/Tag. Bei dieser Erholungsrate war nach 8,5 Tagen eine 50%ige Erholung erreicht. Dieser Wert hat als sogenannte Erholungshalbzeit (recovery halftime, RT 50) Bedeutung. Interessant sind die auf dem Exponentialmodell aufbauenden, theoretischen Überlegungen von BLAIR (1951, 1962). Er formuliert eine den Kurvenverlauf von HAGEN und SIMMONS mathematische beschreibende Gleichung. Sie gilt unter folgenden Voraussetzungen:

1. Durch die Strahlenexposition wird unmittelbar ein Strahlenschaden verursacht.
2. Das Ausmaß des Strahlenschadens verringert sich exponentiell als Funktion der Zeit nach der Bestrahlung.
3. Die Erholung ist nicht vollständig. Es verbleibt ein Restschaden, der bis zum Lebensende erhalten bleibt.

Unter diesen Voraussetzungen lautet die Gleichung zur Berechnung des Strahlenschadens in Abhängigkeit von der Zeit nach der Strahlenexposition:

$$I = \sigma (A - \alpha) e^{-\beta t} + \alpha\sigma$$

I : Strahlenschaden in Abhängigkeit von der Zeit nach der Strahlenexposition.

σ : Applizierte Dosis.

A : Strahlenschaden/Dosiseinheit.

α : Irreparabler Anteil am Strahlenschaden/Dosiseinheit.

β : Erholungskonstante.

Die Bedeutung der BLAIR'schen Gleichung liegt darin, daß sie in den folgenden Jahren zur Diskussionsgrundlage vieler Versuche wurde. Die dabei deutlich werdenden Unterschiede zwischen Theorie und experimentellen Befunden trugen wesentlich zur Erweiterung des Wissens um die Fragen der Erholungsfähigkeit bei.

4.2.2.2. Zellkinetisches Modell

Erste Zweifel an der Richtigkeit der Hypothese, daß der Erholung ein einfacher, exponentiell oder linear verlaufender Vorgang zu Grunde liegt, äußerte MOLE (1956, 1957). Er bestrahlte in "split dose" Experimenten männliche und weibliche Mäuse (Stamm CBA) im Alter von 2 bis 4 Monaten. Die Fraktionierungsintervalle zwischen der Vorbestrahlungsdosis und der Testdosis lagen zwischen 6 Stunden und 20 Tagen. Das überraschende Ergebnis seiner Versuche war, daß 6 Stunden nach einer Vorbestrahlungsdosis von 400 R eine frühe Erholung eintrat, der jedoch nach 12 und 24 Stunden eine ausgeprägte Umkehr der Erholungsprozesse folgte. In dem anschließenden Zeitraum bis zu 20 Tagen fand MOLE den exponentiellen Verlauf der Erholung bestätigt. Die Gültigkeit der von HAGEN und SIMMONS und später von PATERSON (1952) ermittelten täglichen Erholungsraten von 8 bis 10 % wurden durch die Ergebnisse von MOLE in Frage

gestellt. Aus seinen Versuchen ergab sich eine tägliche Erholungsrate, die doppelt so hoch war, und in den ersten 6 Stunden sogar einen Betrag von rund 100 %, bezogen auf 24 Stunden, erreichte. Die von ihm gefundenen frühen Schwankungen der Strahlenresistenz versucht MOLE mit der Produktion toxischer Substanzen sowie einer Mitosehemmung zu erklären. Seine wesentliche Schlußfolgerung war jedoch, daß nach einer einzeitigen Ganzkörperbestrahlung die Erholung nicht als einfacher exponentieller Vorgang beschrieben werden kann, wenngleich manche Ergebnisse innerhalb gewisser Grenzen in dieses Modell zu passen schienen.

In weiteren Experimenten geben CORP und MOLE (1966) einen umfassenden Überblick über die Erholungsvorgänge während der ersten Wochen nach einer Ganzkörperbestrahlung. Sie diskutieren ein Modell, das die Erholungsfähigkeit des Säugetierorganismus auf zellkinetische Grundlagen zurückführt.

Verantwortlich für den Tod der mit einer Dosis von einigen hundert Röntgen bestrahlten Tiere ist die Schädigung des hämatopoetischen Systems. Ob ein Tier überlebt oder nicht, hängt entscheidend davon ab, ob genügend intakte Stammzellen im Knochenmark verblieben sind, die durch Teilung wieder eine normale Zellpopulation herstellen können. Die LD 50/30d stellt in diesem Zusammenhang einen experimentellen Endwert dar, der bei einzeitigen wie bei fraktionierten Bestrahlungen die Knochenmarksstammzellen auf die kritische Anzahl reduziert, bei der 50 % der Tiere innerhalb von 30 Tagen sterben. Man nimmt an, daß Bestrahlungen im Bereich der LD 50/30d die Knochen-

marksstammzellen um den Faktor 10^3 reduzieren. Neben der Beschränkung des Modells auf die Reaktionen des hämatopoetischen Gewebes machen die Autoren folgende weiteren Annahmen:

1. Die Stammzellen, die den Strahleninsult überleben, zeigen eine exponentielle Dosiswirkungsbeziehung mit einer Schulter bei niedrigen Dosen, d.h., die Zahl der Stammzellen beginnt erst bei höheren Dosen exponentiell abzufallen, während im Bereich niederer Dosen die Überlebensrate der Stammzellen höher ist, als die Extrapolation der Überlebenskurve von ihrem exponentiellen Anteil aus erwarten ließe.
2. Der Körper der bestrahlten Tiere stellt ein biologisches Kulturmedium dar, in dem sich die überlebenden Stammzellen nach der Strahlenexposition unter optimalen Bedingungen vermehren können. Unter dieser Voraussetzung ist nach der Reduzierung der Zellzahl durch die Bestrahlung ein logarithmisches Wachstum der intakt gebliebenen Stammzellen zu erwarten.
3. Im Säugetierorganismus wird die Normalzahl der Knochenmarkszellen innerhalb enger Grenzen durch Steuerungsmechanismen reguliert.

Unter diesen Prämissen beschreiben CORP und MOLE die nach einem Strahlenschaden auftretenden Erholungsprozesse folgendermaßen: Nach dem Strahleninsult kommt es zu einer ausgeprägten Abnahme der Stammzellen. Ihr folgt nach einer Latenzzeit, die abhängig zu sein scheint von der Trägheit der Steuerungsmechanismen, ein logarithmisches Wachstum der überlebenden Stamm-

zellen. Diese Wachstumsphase dauert ungefähr vom 2. bis zum 10. Tag nach der Strahlenbelastung. Der Verlauf der Erholungskurve ist in diesem Bereich linear und hat eine Steigung von rund 50 rad/Tag. Gegen Ende der logarithmischen Wachstumsphase, wenn die Knochenmarkskompartimente wieder mit Stammzellen aufgefüllt sind, kann es durch die Trägheit der Regulationsmechanismen zu einem Überschießen der Zellzahl über das normale Niveau hinaus kommen. In Form eines Einschwingvorganges versucht der Organismus die über der Norm liegende Zellzahl durch eine inhibitorisch wirkende Rückkopplung auf die Ausgangslage zurückzuführen. Der linearen Erholungsphase folgen somit gedämpfte, sinusoide Schwankungen der Erholungsvorgänge um einen Mittelwert, die bis zu 7 Wochen nach dem Strahleninsult andauern sollen. - Entsprechend der graphischen Darstellung in Abbildung 25 lassen sich die Vorstellungen von CORP und MOLE zusammengefaßt in 3 Phasen der Erholung einteilen.

1. Phase: In der ersten Phase wird ein exponentieller Anstieg der Erholungsvorgänge angenommen, der bis zu 2 Tagen nach der Vorbestrahlungsdosis andauern soll (gepunkteter Kurventeil).
2. Phase: Die zweite Phase weist eine lineare Zunahme der Erholung vom 2. bis ungefähr zum 10. Tag auf. Die Dauer dieses linearen Anstiegs ist abhängig von der Höhe der Vorbestrahlungsdosis (D_c).
3. Phase: In der dritten Phase folgen Oszillationen der Erholungsvorgänge um einen Mittelwert in Form einer gedämpften Sinusschwingung.

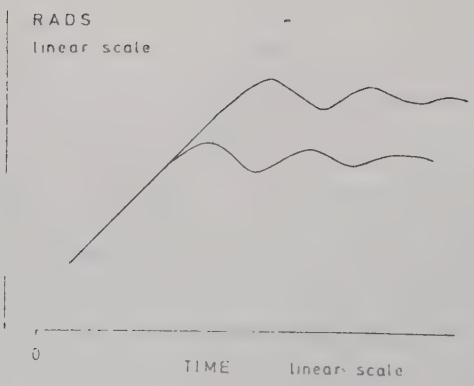

Abbildung 25: Graphische Darstellung zur Erklärung der Erholungsvorgänge nach einer Strahlenschädigung (nach CORP und MOLE 1966).

Die Experimente, die CORP und MOLE mit verschiedenen Vorbestrahlungsdosen und Zeitintervallen bis zu 6 Wochen nach der Conditioning Dose durchführten, schienen ihr Modell zu stützen. Der von ihnen nicht näher untersuchten ersten Phase galten die eigenen Experimente. Für diesen frühen Bereich sind seit 1956 zahlreiche "split dose" Experimente an Zellkulturen in vivo und in vitro durchgeführt worden (PUCK 1956, 1959, ELKIND 1959, 1960, 1961, TILL, McCULLOCH 1961, 1963, 1964). In diesen Versuchen lassen sich die frühen Erholungsphänomene mit großer Präzision nachweisen.

ELKIND und SUTTON 1959 beobachteten als erste fluktuierende Erholungsvorgänge an Zellkulturen des chinesischen Hamsters. Kriterium bei der Beurteilung des Strahlenschadens war die Fähigkeit der Zellen zur Koloniebildung nach der Strahlenexposition. Die Autoren fanden, daß den kurzzeitigen Fraktionierungsintervallen auf ein frühes Maximum der Strahlenresistenz regelmäßig ein Minimum folgte. Die in vielen Experimenten erhobenen, gleichartigen Befunde veranlaßten ELKIND und SUTTON eine Hypothese zu formulieren, durch die die Schwankungen der Erholungsvorgänge in den ersten Stunden erklärt wurden. Die Autoren gehen davon aus, daß der Strahleninsult zu einer Synchronisation der Zellteilungsrhythmen im hämatopoetischen Gewebe führt. Nach einer hinreichend hohen Dosis überleben nur die Zellen, die sich gerade in der resistentesten Phase des Generationszyklus, der S-Phase, befunden haben. Zellen in den strahlenempfindlicheren G_1- und G_2-Phasen werden durch die Strahlung getötet. Der nach der Bestrahlung deutliche Anstieg der Strahlenresistenz erklärt sich somit dadurch, daß sich durch Selektion die Mehrzahl der Stammzellen des Knochenmarks vorübergehend in der strahlenresistenteren S-Phase befindet (Synchronisation), anstatt heterogen im hämatopoetischen Gewebe verteilt zu sein. Die überlebenden, synchronisierten Zellen schreiten im Generationszyklus voran (Progression) und erreichen gleichzeitig prämitotische Stadien. Damit wird die ganze Kultur strahlenempfindlicher. Appliziert man jetzt die Testdosis, findet man eine erhöhte Mortalität. Einem Maximum der Überlebensraten,

das 1 bis 2 Stunden nach der Erstbestrahlung auftritt, folgt ein Minimum zwischen 3 und 6 Stunden. Diese Fluktuationsmechanismen verl eren sich bei längerfristigen Fraktionierungsintervallen, d± die urprüngliche Synchronisation schnell verloren geht. Die:er sogenannte Elkind'sche Typ der Erholung wird ausschließ ich intrazellulären Vorgängen zugeschrieben.

Ein gewichtiger Einwand gegen die Deutung der ELKIND'schen in vitro-Experimente war die Feststellung, daß erst nach dem Ausscheiden der letal geschädigten Zellen und der damit verbundenen Änderung der physiologischen Zellkonzentration ein Stimulus geschaffen wird, der die Proliferation der überlebenden Stammzellen in Gang setzt. Aus diesem Grunde könnten frühe Schwankungen der Strahlensensibilität unter in vivo Bedingungen nicht mit einem Synchronisations- und Progressionsmodell erklärt werden.

Unter diesem Gesichtspunkt brachten die von TILL und McCulloch 1961, 1963, 1964 durchgeführten in vivo-Experimente neue Informationen über die frühen Erholungsmechanismen. Ihre Methode geht von der Beobachtung aus, daß die intravenöse Injektion einer ausreichenden Zahl von suspendierten Knochenmarkszellen ($\nearrow 10^4$) in geeignete Empfängertiere, die vorher einer letalen Ganzkörperbestrahlung ausgesetzt waren, zur Ausbildung makroskopisch sichtbarer Zellkolonien in der Milz der Tiere führt. Mit dieser Versuchsanordnung gelangen TILL und McCULLOCH Messungen, mit denen sie nachweisen konnten, daß die Befunde der in vitro-Versuche eine Extrapolation der frühen Erholungsvorgänge auf die in vivo Verhältnisse erlauben.

In ihren Ergebnissen, die in Abbildung 26 dargestellt sind, fanden sie ebenfalls ausgeprägte Schwankungen der Strahlenresistenz in den ersten Stunden nach der Strahlenexposition. Das Maximum der Strahlenresistenz trat jedoch im Unterschied zu den Resultaten ELKINDs erst nach 4 bis 5 Stunden auf, gefolgt von einem Minimum nach 10 Stunden.

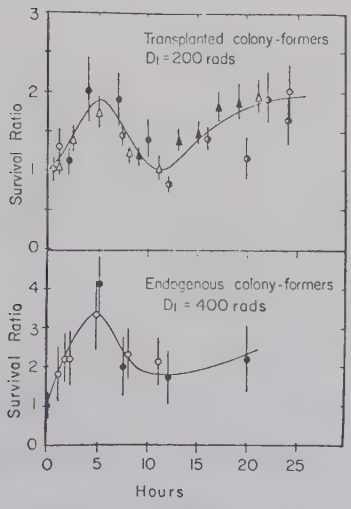

Abbildung 26: Kinetik der frühen Erholungsvorgänge unter in vivo Bedingungen. Ordinate: Überlebensrate transplantierter Knochenmarkszellen, Abszisse: Fraktionierungsintervalle zwischen Vorbestrahlungs- und Testdosis. TILL und McCULLOCH 1964

Auf der Basis der Versuche an Zellkulturen konnte der Schritt zu Ganzkörperbestrahlungen erfolgen. Es galt die Frage zu beantworten, ob "split dose" Experimente mit hinreichend kurzen Fraktionierungsintervallen ähnliche Fluktuationen der Strahlenresistenz zeigen würden. Erste Hinweise gaben MOLE 1956, KEREIAKES, PARR, KREBS 1957, wenngleich sie noch keine detaillierten Erklärungen geben konnten. In neuerer Zeit haben KALLMAN und Mitarbeiter 1963, 1964 und 1966 umfangreiche "split dose" Experimente an erwachsenen Mäusen zweier Stämme (C57BL und BALB/c) vorgenommen. Sie benutzten 3 verschiedene Vorbestrahlungsdosen: 154 R, 309 R und 457 R. Die Fraktionierungsintervalle hatten bis zu 12 Stunden nach der Erstbestrahlung jeweils 2stündige Unterbrechungen, um anschließend bis zu 48 Stunden mit 6stündigen Pausen fortgesetzt zu werden. Die kurzzeitigen Fraktionierungen sollten möglichst viele der vermuteten Fluktuationen erfassen. Das Alter der Tiere betrug durchschnittlich 140 Tage. Insgesamt wurden 5 044 Mäuse bestrahlt. Die Ergebnisse zeigten, daß im Verlauf von 48 Stunden ausgeprägte Schwankungen der Strahlenempfindlichkeit unabhängig von der Vorbestrahlungsdosis auftraten. Erste Minima waren nach 4 bis 9 Stunden, Maxima nach etwa 12 Stunden feststellbar. Anschließend folgte ein Abfall der Strahlenempfindlichkeit bis zu 48 Stunden nach der Vorbestrahlung, der aber auch während dieses Zeitraumes Fluktuationen aufwies. Nach 48 Stunden war eine vollständige Erholung und sogar Übererholung bei den Versuchstieren, die eine Vorbestrahlungsdosis von 154 R und 309 R erhalten hatten, eingetreten. Die Erho-

lungshalbzeiten, die aus Abbildung 27 zu entnehmen sind, lagen zwischen 18 und 30 Stunden. Zusammenfassend glaubten KALLMAN und SILINI, eine Bestätigung für die Annahme gefunden zu haben, daß die Erholung während der ersten 48 Stunden exponentiell voranschreitet und gleichzeitig von phasischen Schwankungen der Strahlenresistenz begleitet wird.

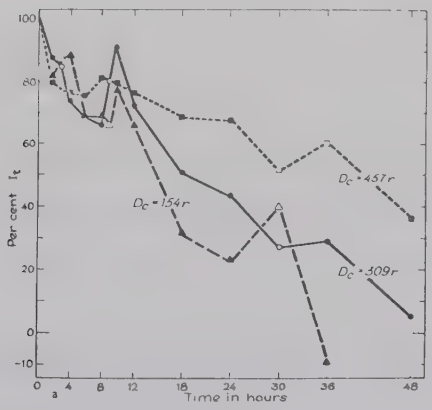

Abbildung 27: Erholungsvorgänge innerhalb von 48 Stunden nach einer Vorbestrahlung mit drei verschiedenen Conditioning Dose (D_c) bei erwachsenen Mäusen. Ordinate: Prozentualer, von der Vorbestrahlung (D_c) herrührender Restschaden; Abszisse: Fraktionierungsintervalle zwischen D_c und Testdosis. KALLMAN und SILINI 1964

4.2.3. Vergleich mit eigenen Versuchsergebnissen

Die eigenen tierexperimentellen Befunde schließen eine Lücke im Rahmen der bisherigen Untersuchungen zur Frage der Erholungsfähigkeit des Gesamtorganismus. Während die besprochenen Arbeiten ausschließlich an erwachsenen Mäusen vorgenommen wurden, geben die eigenen Versuche Informationen über die frühen Erholungsphasen der Maus während der Säuglingsperiode. Die einzige vergleichbare Arbeit untersucht den Erholungsverlauf jugendlicher Witstar Ratten im Alter von 12, 24 und 32 Tagen (RFINCKE, MELLMANN 1967). Hier trat ein Minimum der Strahlenresistenz nach 12 Stunden auf. Bestrahlungen mit kurzzeitig der Conditioning Dose folgenden Fraktionierungsintervallen, die unter 6 Stunden lagen, wurden in diesen Versuchen nicht vorgenommen. Es muß daher angenommen werden, daß die Experimente den ELKIND'schen Typ der Erholung gar nicht erfaßten.

Die Untersuchung der Säuglingsperiode gewinnt dadurch Bedeutung, daß der jugendliche Organismus sich noch nicht im Fließgleichgewicht erwachsener Tiere befindet. Aus diesem Grund weisen die hämatopoetischen Gewebe wachsender Tiere wahrscheinlich höhere Mitoseraten auf, und der Effekt der Synchronisation läßt sich bei ihnen leichter darstellen als in ausgereiften Organismen mit relativ ruhenden Knochenmarkszellen (MOLE 1966). Unter dem Gesichtspunkt der ELKIND'schen Modellvorstellung zeigen die eigenen Versuche eine gute Übereinstimmung mit der an Zellkulturen nachgewiesenen frühen Erholungskinetik. Das Maximum der Strahlenresistenz wird bei

1 bis 12 Tage alten Mäusen ebenfalls nach 2 Stunden durchschritten. Das zeitlich spätere Auftreten des Resistenzanstieges in den Versuchen von TILL und McCULLOCH wird von den Autoren trotz geringer Einschränkungen auch mit intrazellulären "recovery" Vorgängen gedeutet. Gegen Ende der Säuglingsperiode werden die Ergebnisse uneinheitlich. Die biologische Reaktion der Tiere nach kurzzeitigen Bestrahlungspausen ist so variabel, daß ein zweigipfliges Maximum der Strahlenresistenz auftritt. Dieser Befund läßt sich nicht mit der frühen Erholungskinetik der hämatopoetischen Gewebe erklären. Wenn man jedoch die LD 50/30d nach 2 Stunden als einen Wert betrachtet, der noch innerhalb normaler, biologischer Schwankungsbreiten liegt, so deutet auch in dieser Altersgruppe der Resistenzanstieg nach 1- und 4stündigem Fraktionierungsintervall auf einen frühen Anstieg der Strahlenresistenz hin.

Ein gemeinsamer Vergleich der in vitro- und in vivo-Experimente mit den eigenen Versuchen scheint eine Extrapolation der frühen Erholungskinetik auf den Gesamtorganismus zu erlauben. Im Zusammenhang mit den "split dose" Experimenten von KALLMAN und SILINI läßt sich darüber hinaus erkennen, daß die Abnahme der Strahlenempfindlichkeit im Rahmen der ELKIND'schen "recovery" Vorgänge sowohl bei erwachsenen wie auch bei jugendlichen Tieren unabhängig von der Vorbestrahlungsdosis nicht über 40 % innerhalb von 2 bis 6 Stunden nach der Strahlenexposition hinausgeht.

Abweichend von den Modellversuchen an Zellkulturen sowie im Gegensatz zu den Ergebnissen von KALLMAN und SILINI und der Hypothese Moles zeigten die eigenen Untersuchungen, daß nach dem frühen Empfindlichkeitsminimum die Strahlensensibilität bei Fraktionierungsintervallen bis zu 24 Stunden wieder anstieg. Für 6, 12 und 16 Tage alte Tiere werden fast die Werte einzeitiger Ganzkörperbestrahlungen erreicht. 1 Tag alte Tiere wiesen sogar nach 24-stündigen Bestrahlungspausen eine signifikant höhere Mortalität im Vergleich zur einzeitigen Strahlenexposition auf. Die Wirkung der Vorbestrahlungsdosis deutet hier auf eine Strahlensensibilisierung neugeborener Mäuse hin. - Die großen Zeitintervalle zwischen 4 und 12 sowie 12 und 24 Stunden erlauben keine Aussage über weitere Fluktuationen, wie sie KALLMAN und SILINI postulieren. Es ist allerdings unwahrscheinlich, daß die nach 12 und 24-stündigen Fraktionierungsintervallen gefundenen Meßpunkte dazwischen liegende Schwankungen maskieren sollten.

Abschließendes und wichtigstes Ergebnis der eigenen "split dose" Experimente ist der Befund, daß in der ersten Phase der Erholung altersabhängige Unterschiede zwischen erwachsenen und jugendlichen Mäusen auftreten. Der exponentielle Erholungsverlauf reifer Mäuse konnte nicht für jugendliche Tiere während der Säuglingsperiode bestätigt werden. Hier zeigten alle untersuchten Altersgruppen nach 24 Stunden noch keine Erholung von der Vorbestrahlungsdosis.

5.0. Zusammenfassung

Weiße Mäuse eines institutseigenen Inzuchtstammes erhielten im Alter von 1, 6, 12 und 16 Tagen einzeitige und fraktionierte Ganzkörperbestrahlungen mit Röntgenstrahlen. Etwa 1 600 Mäuse wurden einmaligen, kurzzeitigen Ganzkörperbestrahlungen ausgesetzt, um die Abhängigkeit der Strahlenempfindlichkeit von tiereigenen Faktoren insbesondere dem Alter der Tiere zu prüfen. Die Frage der Erholungsfähigkeit des jugendlichen Organismus von einem Strahlenschaden wurde an etwa 3 700 Tieren mit Hilfe der "split dose" Technik untersucht. Die Intervalle zwischen der Vorbestrahlungsdosis ("Conditioning dose", D_c = 300 R) und den Testdosen variierten zwischen 30, 60 und 120 Minuten sowie 4, 12 und 24 Stunden. Die Berechnung der LD 50/30d Werte erfolgte mittels Probitanalyse aus den Absterbedaten.

Die Experimente hatten folgende Ergebnisse:

1. Die Werte der LD 50/30d nach einmaligen, kurzzeitigen Ganzkörperbestrahlungen unterschieden sich im Verlauf der Säuglingsperiode nur wenig. Sie lagen zwischen 650 R und 720 R.
2. Der Erholungsverlauf ergab für die 1, 6 und 12 Tage alten Tiere nach zweistündigen Fraktionierungsintervallen ein frühes Erholungsmaximum, das mit den ELKIND'schen "recovery" Phänomenen interpretiert wurde. Nur 16 Tage alte Tiere zeigten den ausgeprägten Anstieg der Strahlenresistenz nicht.
3. Der theoretisch postulierte und an erwachsenen Mäusen auch experimentell nachgewiesene steile Anstieg der Erholungs-

vorgänge innerhalb von 24 Stunden konnte für jugendliche Mäuse nicht bestätigt werden. Nach 12 und 24-stündigen Fraktionierungsintervallen war noch keine Erholung von der Vorbestrahlungsdosis festzustellen.

6.0. Anhang

Tabelle 1 (Seite 78 bis 79):

Alle Einzelversuche zur Bestimmung der LD 50/30d in Abhängigkeit vom Alter nach einmaligen, kurzzeitigen Ganzkörperbestrahlungen.

Tabelle 2 (Seite 80 bis 85):

Ergebnisse aller durchgeführten Einzelversuche zur Bestimmung der LD 50/30d Werte mit Hilfe der "split dose" Technik (siehe Abschnitt 2.4. und 2.7.) in Abhängigkeit von Fraktionierungsintervallen und Tieralter.

Tieralter in Tagen	Bestr. Tiere	Dosis R	Anzahl der Reagenten	%-Satz der Reagenten	LD 50/30d R	95 % Vertrauens-grenzen: R
1	80	500	4	5		
1	78	600	13	17		
1	47	650	22	48		
1	47	700	34	72		
1	56	800	56	100		
1	308				659	683 - 641
6	51	500	0	0		
6	142	600	6	4		
6	88	650	32	38		
6	141	700	79	56		
6	39	750	36	92		
6	50	800	49	98		
6	511				682	691 - 674
12	55	400	0	0		
12	53	500	1	2		
12	87	600	12	14		
12	55	620	12	22		
12	47	650	19	40		
12	56	660	24	43		
12	40	700	32	80		
12	40	800	40	100		
12	433				661	692 - 641

Tieralter in Tagen	Bestr. Tiere	Dosis R	Anzahl der Reagenten	%-Satz der Reagenten	LD 50/30d R	95 % Vertrauens-grenzen: R
16	86	600	7	8		
16	89	650	28	31		
16	79	700	27	34		
16	89	750	56	63		
16	24	800	21	88		
16	367				716	733 - 702

Tieralter in Tagen	Fraktionierungsintervalle	Anzahl der bestr. Tiere	Dosis R	Anzahl d. Reagenten	%-Satz d. Reagenten	LD 50/30d R	95 % Vertrauensgrenzen	Steigung prob/100R
1	30'	39	600	1	2			
1	30'	40	650	10	25			
1	30'	40	700	24	60			
1	30'	40	800	40	100			
1	30'	159				683	697-671	2,07
1	60'	40	600	1	2			
1	60'	40	650	12	30			
1	60'	40	700	23	63			
1	60'	40	800	40	100			
1	60'	160				679	692-667	2,22
1	120'	40	600	6	12			
1	120'	40	650	9	22			
1	120'	40	700	12	30			
1	120'	39	800	23	58			
1	120'	159				770	850-732	0,73
1	4h	39	550	4	10			
1	4h	39	600	8	20			
1	4h	38	650	24	63			
1	4h	32	700	21	65			
1	4h	40	750	35	88			
1	4h	188				649	666-632	1,20

Tieralter in Tagen	Fraktionierungsintervalle	Anzahl d. bestr. Tiere	Dosis R	Anzahl der Reagenten	%-Satz d. Reagenten	LD 50/30d R	95 % Vertrauensgrenzen	Steigung prob /100 R
1	12h	32	650	15	47			
1	12h	40	700	31	78			
1	12h	40	750	40	100			
1	12h	22	800	22	100			
1	12h	134				657	670-635	2,33
1	24h	40	550	13	33			
1	24h	40	600	34	85			
1	24h	80	650	69	86			
1	24h	40	700	40	100			
1	24h	200	Heterogenität			574		1,65
6	30'	55	600	3	6			
6	30'	40	700	18	45			
6	30'	40	750	32	80			
6	30'	40	800	40	100			
6	30'	175				695	709-679	1,68
6	60'	40	700	4	10			
6	60'	40	750	11	28			
6	60'	40	800	34	85			
6	60'	32	850	32	100			
6	60'	152				761	772-750	2,38

Tieralter in Tagen	Fraktionierungsintervalle	Anzahl d. bestr. Tiere	Dosis R	Anzahl d. Reagenten	%-Satz d. Reagenten	LD 50/30d R	95 % Vertrauensgrenzen	Steigung prob/ 100R
6	120'	32	700	7	22			
6	120'	40	750	14	35			
6	120'	39	800	24	60			
6	120'	39	850	36	92			
6	120'	150				770	787-751	1,10
6	4h	40	650	3	8			
6	4h	32	700	8	25			
6	4h	40	750	18	45			
6	4h	41	800	38	95			
6	4h	153	Heterogenität			730		1,88
6	12h	40	600	1	2			
6	12h	40	650	3	8			
6	12h	40	700	15	38			
6	12h	40	750	27	68			
6	12h	40	800	40	100			
6	12h	200				714	726-702	1,97
6	24h	40	650	13	32			
6	24h	40	700	18	45			
6	24h	40	750	36	90			
6	24h	40	800	40	100			
6	24h	160	Heterogenität			690		1,70

Tieralter in Tagen	Fraktionierungsintervalle	Anzahl d. bestr. Tiere	Dosis R	Anzahl d. Reagenten	%-Satz d. Reagenten	LD 50/30d R	95 % Vertrauensgrenzen	Steigung prob /100 R
12	30'	32	600	1	3			
12	30'	32	650	5	15			
12	30'	31	700	11	33			
12	30'	32	800	32	100			
12	30'	127				705	724-690	1,88
12	60'	33	600	3	9			
12	60'	31	700	13	42			
12	60'	32	800	27	87			
12	60'	96				708	735-683	1,10
12	120'	32	600	2	6			
12	120'	32	700	12	37			
12	120'	31	800	20	65			
12	120'	95				747	795-715	0,91
12	4h	40	650	13	33			
12	4h	40	700	24	60			
12	4h	40	750	28	70			
12	4h	39	800	36	90			
12	4h	159				686	705-658	1,06

Tieralter in Tagen	Fraktionierungsintervalle	Anzahl d. bestr. Tiere	Dosis R	Anzahl d. Reagenten	%-Satz d. Reagenten	LD 50/30d R	95 % Vertrauensgrenzen	Steigung prob /100 R
12	12h	40	650	3	7			
12	12h	40	700	15	38			
12	12h	40	750	36	90			
12	12h	40	800	40	100			
12	12h	160				705	715-695	2,85
12	24h	40	650	14	35			
12	24h	40	700	34	85			
12	24h	40	750	37	92			
12	24h	86	800	83	97			
12	24h	206				660	677-637	1,66
16	30'	40	700	18	44			
16	30'	40	750	33	82			
16	30'	40	800	39	97			
16	30'	40	850	39	97			
16	30'	160				704	719-681	1,88
16	60'	37	650	9	24			
16	60'	40	700	11	28			
16	60'	38	750	19	50			
16	60'	40	800	22	55			
16	60'	155				771	863-736	0,60

Tieralter in Tagen	Fraktionierungsintervalle	Anzahl d. bestr. Tiere	Dosis R	Anzahl d. Reagenten	%-Satz d. Reagenten	LD 50/30d R	95 % Vertrauensgrenzen	Steigung prob /100 R
16	120'	40	700	13	32			
16	120'	40	750	29	72			
16	120'	24	800	19	94			
16	120'	104				721	734-705	1,99
16	4h	40	650	0	0			
16	4h	40	700	4	10			
16	4h	40	750	10	25			
16	4h	32	800	25	80			
16	4h	152				768	784-756	2,01
16	12h	40	700	12	30			
16	12h	40	750	27	68			
16	12h	40	800	36	90			
16	12h	24	850	24	100			
16	12h	144				726	739-710	1,94
16	24h	40	700	14	35			
16	24h	40	750	27	68			
16	24h	40	800	39	98			
16	24h	24	850	24	100			
16	24h	144				720	732-705	2,22

7.0. Schrifttum

1. ABRAMS, H.L. — Influence of age, body weight, and sex on susceptibility of mice to the lethal effects of X-radiation. Proc.Soc.Exper.Biol.Med., 76,1951, 729-732

2. BERGONIE, R., TRIBONDEAU, P. — zit. nach KREBS, A., Strahlenbiologie, Bd. 95, Springer Verlag Berlin 1968

3. BLAIR, H.A. — A formulation of the injury, life span, dose relations for ionizing radiations. I. Application to the mouse USAEC Report UR-206, University of Rochester, 1952

4. BLAIR, H.A. — The constancy of repair rate and of irreparability during protracted exposure to ionizing radiation. Ann.N.Y.Acad.Sci., 114,1964,150-157

5. BOND, V.P., FLIEDNER, T.M., ARCHAMBEAU, J.O. — Mammalian radiation lethality. A disturbance in cullular kinetics. Academic Press, New York and London, 1965

6. CROSFILL, M.L., LINDOP, P.J., ROTBLAT, J. — Variation of sensitivity to ionizing radiation with age. Nature, 183,1959,1729-1730

7. DIN 6814, Blatt 5 — Deutsche Normen, Begriffe und Benennungen in der radiologischen Technik, Strahlenschutz, Entwurf Dez. 1969. Beuth-Vertrieb GmbH, Berlin 30

8. ELKIND, M.M., SUTTON, H. — X-ray damage and recovery in mammalian cells in culture. Nature, 184,1959,1293-1295

9. ELKIND, M.M., SUTTON, H. — Radiation response of mammalian cells grown in culture. I. Repair of X-ray damage in surviving Chinese Hamster cells. Radiat.Res., 13,1960,556-593

10. ELKIND, M.M., SUTTON, H., MOSES, W.B. — Postirradiation survival kinetics of mammalian cells grown in culture. J.Cellular Comp.Physiol.58(1),1961, 113-134

11. FINNEY, D.J. — Probit analysis 2nd Ed. Cambridge 1952

12. FLIEDNER, T.M., STODTMEISTER, R., SANDKÜHLER, S. — Die Bedeutung von Gefäßwandschäden für die Pathogenese der Blutbildungsstörung bei Ratten nach Ganzkörperbestrahlungen mit 15 MeV-Elektronen. Strahlentherapie, 101,1956,308-317

13. FOCHEM, K., MICHAELICA, W., PICHA, E. — Tageszeitlich differente Strahlenwirkung bei Ratten mit Yoshidasarkom. Strahlentherapie 132,1967,618-622

14. FOWLER, J.F. The effect of age on radiosensivity. In: Radiation effects in physics, chemistry, and biology. Ed.: M.Ebert and A.Howard, North Holland Publ.Comp.Amsterdam 1963

15. GRAHN, D., HAMILTON, K.F. Genetic variation in the acute lethal response of four inbred mouse strains to whole body X-irradiation. Genetics, 42,1957,189-198

16. HAGEN, C.W., SIMMONS, E.L. Effects of total-body X-irradiation on rats. I. lethal action of single, paired and periodic exposures. District Report CH 3815, Chicago, 1947

17. HEUSS, K. Zur Frage der Erholungsvorgänge bei Dauerbestrahlungen von Versuchstieren mit Röntgenstrahlen. Biophysik, 4,1967,146-154

18. JOHNSON, H.A. Age and sensivity to radiation life shortening. Radiat.Res., 23,1964,19-24

19. KALLMAN, R.F. The effect of dose rate on mode of acute radiation death of C57BL and BALB/c mice. Radiat.Res., 16,1962,796-810

20. KALLMAN, R.F., SILINI, G. Recuperation from lethal injury by whole-body irradiation. I. Kinetic aspects and the relationship with

conditioning dose in C57BL mice. Radiat.Res.,22,1964,622-642

21. KALLMAN, R.F., SILINI, G., TAYLOR III, H.M. Recuperation from lethal injury by whole-body irradiation. II. kinetic aspects in radiosensivitive BALB/c mice, and cyclic fine structure during the four days after irradiation. Radiat.Res.,29,1966,362-394

22. KALLMAN, R.F., SILINI, G. Some observations and an hypothesis concerning the early stages of radiation recovery. Ann.N.Y.Acad.Sci.,114,1964,173-184

23. KEREIAKES, J.G., PARR, W.H., KREBS, A.T. Fractionated dose effects on survival and organ weights in X-irradiated mice. Am.J.Physiol.,191(1),1957,131-134

24. KINGERY, L.B. Saturation in roentgen therapie, its estimation and maintenance. Arch.Dermatol. and Syphilol.,1,1920, 423-434

25. KOCH, R., SEITER, I. Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz, 61. Mitteilung: Geschlechtsunterschiede der Maus im Dosisbereich unter 100 R (Untersuchungen mit Radioeisen). Strahlentherapie,126,1956,309-316

26. KOHN, H.J., KALLMAN, R.F. Age, growth and the LD-50 of X-rays. Science,124,1956,1078

27. LANGENDORFF, H., KOCH, R.
Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz, VI. Mitteilung: Über die Absterbeanordnung röntgenbestrahlter Mäuse, die Unterschiede des Geschlechts und den Einfluß der Keimdrüsen auf die Strahlenempfindlichkeit.
Strahlentherapie,94,1954,250-257

28. LANGENDORFF, H., LANGENDORFF, M.
Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz, 68. Mitteilung: Strahlenempfindlichkeit und Schutzwirkung des Serotonins bei Mäusen verschiedener Altersstufen.
Strahlentherapie,129,1966,425-431

29. LETTRE, R.
Schematische Darstellung der Bestimmung der einzelnen Phasen des Zellzyklus bei Zugabe markierten Thymidins.
Mat.Med.Nordmark,XX/11,1968,645-650

30. LINDOP, P.J., ROTBLAT, J.
Long-term effects of a single whole-body exposure of mice to ionizing radiations, I. Life-shortening.
Proc.Royal Soc.,154,1961,332-349

31. LINDOP, P.J., ROTBLAT, J.
The age factor in the susceptibility of man and animals to radiation, I. The age factor in radiation sensivity in mice.
Brit.J.Radiol.35,1962,23-31

32. LOGIE, L.C., HARRIS, M.D., TASCH, R.E., van HOOSER, E.N. An analysis of the LD 50/30d as related to radiation intensity. Radiat.Res., 12,1960,295-300

33. MOLE, R.H. Quantitative observations on recovery from whole-body irradiation in mice. I. Recovery after single large doses of radiation. Brit.J.Radiol.,29,1956,563-569

34. MOLE, R.H. Quantitative observations on recovery from whole-body irradiation in mice. II. Recovery during and after daily irradiation. Brit.J.Radiol.,30,1957,40-46

35. MOLE, R.H., CORP, M.J. Decay of radiation damage in mice given whole-body irradiation. Intern.Congr.Radiat.Res.,2nd,Abst. 1962,28

36. MOLE, R.H., CORP, M.J. The kinetics of recovery during the first few weeks after whole-body X-irradiation of mice. Int.J.Rad.Biol.,11(1),1966,69-86

37. PATERSON, E., GILBERT, C.W., MATHEWS, J. Time intensity factors and whole-body irradiation. Brit.J.Radiol.,25,1952,427-433

38. PETERS, K. Veränderungen der Überlebenszeit von Ratten nach Ganzkörperbestrahlungen zu verschiedenen Tageszeiten. Strahlentherapie, 122, 1963, 554-557

39. PIZZARELLO, D.D., WITKOVSKI, R.L., LYONS, E.A. Variations in survival time after whol body radiation at two times of day. Science, 139, 1963, 349

40. PUCK, T.T., MARCUS, P.I. Action of X-rays on mammalian cells. J.Exptl.Med., 103, 1956, 653-666

41. PUCK, T.T. Quantitative studies on mammalian cell in vitro. Rev.Modern Physiol., 31, 1959, 448

42. QUASTLER, H. The nature of intestinal radiation dea Radiat.Res., 4, 1956, 303-320

43. RAJEWSKY, B. Strahlendosis und Strahlenwirkung Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1954

44. REINCKE, U., GOLDMANN, E., MELLMANN, J., JESDINSKY, H.J. Zur altersabhängigen Strahlenempfind- lichkeit weißer Ratten III. Mitteilun Bestimmung der LD 50/30 während der Säuglingszeit und im Wachstumsalter Strahlentherapie, 136, 1968, 349-359

45. REINCKE, U., MELLMANN, J. Frühe Stadien der Erholung bei bestrahl ten Ratten und Mäusen. Experientia, 24, 1968, 635-638

46. RUGH, R., CLUGSTON, H. Radiosensivity with respect to the estrous cycle in the mouse. Radiat.Res. 2, 1955, 227-236

47. RUGH, R., CATRO, V., BALTERS, S., KENNELLY, E.V., MARSDEN, D.S., WARMUND, J., WOLLIN, M.
X-rays: are there cyclic variations in radiosensivity?
Science, 142, 1963, 53-56

48. RUGH, R., PARDO, G.
Age and hematological recovery from acute whole-body X-irradiation
Radiat.Res., 20, 1963, 399-422

49. RUGH, R., WOHLFROMM, M.
Prenatal X-irradiation and postnatal mortality.
Radiat.Res., 26, 1965, 493-506

50. RUGH, R.
Hematological recovery of mice after fetal X-irradiation
Biol.Bull., 134, 1968, 320-324

51. SACHER, G.A.
Dependence of acute radiosensivity on age in adult female mouse
Science, 125, 1957, 1039-1040

52. SACHER, G.A.
Repairable and irreparable injury. A survey in the position of experiment and theory
In: Radiation biology and medicine, W.D. Claus, Ed. Chapter 12, Addison-Wesley Publ.Co., Reading, Mass. USA, 1958

53. SMITH, W.W., ALDERMAN, I.M.
Radiation sensitivity in mice as a function of age
siehe FOWLER, J.F. 1963

54. SPALDING, J.F., TRUJILLO, T.T. Radiosensivity of mice as a function of age
Radiat.Res., 16, 1962, 125-129

55. Sonderband: Hämatologische Befunde beim akuten Strahlensyndrom
Strahlentherapie, 56, 1964

56. STORER, J.B. Recovery from radiation injury in mammals
Ann.N.Y.Acad.Sci., 114, 1964, 126-137

57. STORER, J.B. Radiation resistance with age in normal and irradiated populations of mice
Radiat.Res., 25, 1965, 135-459

58. SULLIVAN, M.F. Gastrointestinal radiation injury.
Monographs on nuclear medicine and biology No. 1,
Ed.: Excerpta Medica Foundation 1968

59. TILL, J.E., McCULLOCH, E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells
Radiat.Res., 14, 1961, 213-222

60. TILL, J.E., McCULLOCH, E.A. Early repair processes in marrow cells irradiated and proliterating in vivo
Radiat.Res., 18, 1963, 96-105

61. TILL, J.E., McCULLOCH, E.A. Repair processes in irradiated mouse hematopoietic tissue
Ann.N.Y.Acad.Sci., 114, 1964, 115-125

62. THOMSON, J.F., TOURTELOTTE, W.W. The effect of dose-rate on the LD 50 of mice exposed to Gamma-radiation from Cobalt-60 sources Am.J.Roentgenol.,69,1953,826-829

63. WACHSMANN, F., DIMOTSIS, A. Kurven und Tabellen für die Strahlentherapie S.Hirzel Verlag, Stuttgart, 1957

64. YUHAS, J.M., HUANG, D., STORER, J.B. Residual Radiation injury: Hematopoietic and gastrointestinal involvement in relation to age Radiat.Res.,38,1969,501-512

Herrn Prof. Dr. H. Muth, Direktor des Instituts für Biophysik der Universität des Saarlandes, danke ich für die Überlassung des Themas, seine wertvollen Anregungen und der jederzeit großzügigen Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Dr. E. Oberhausen danke ich für die anregende Diskussion und die Ratschläge, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Für die tatkräftige Hilfe bei der Durchführung der Versuche gilt mein Dank den Tierpflegerinnen Frau I. Gartenhof und Frau G. Engelbrecht.

Lebenslauf

Am 17. Januar 1943 wurde ich als Sohn des Volksschullehrers Hans Hellwege und seiner Ehefrau Gretchen Hellwege, geb. Grube, in Hamburg geboren. Ab Ostern 1949 besuchte ich die Volksschule. 1955 wechselte ich auf das Heinrich-Hertz Gymnasium, Hamburg. Die Reifeprüfung bestand ich 1963 im Wirtschaftsgymnasium Am Lämmermarkt, Hamburg.

Nach der Schulzeit meldete ich mich freiwillig für drei Jahre zur Bundeswehr. Im Sommersemester 1966 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Universität des Saarlandes. Nach dem 2. Semester bestand ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung und in dem 5. Semester die Zahnärztliche Vorprüfung. Im Sommersemester 1971 werde ich mein Studium mit der Zahnärztlichen Prüfung beenden.